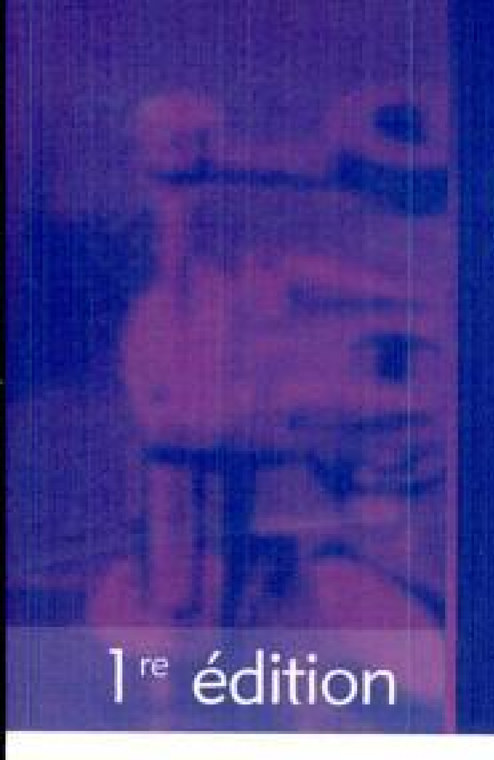
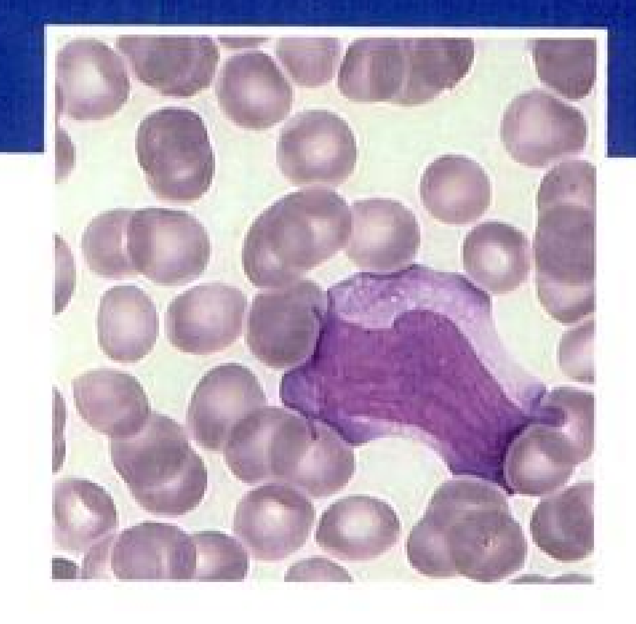


BIOSCIENCES ET TECHNIQUES

Collection dirigée par J. Figarella et A. Calas

1re édition



J. Allay, M. Charrin, C. Plas,
M. Rivière, P. Vanneste, S. Vanneste

Analyses biologiques

Sujets de BTS corrigés

doin

Analyses biologiques

Sujets de BTS corrigés

Chez le même éditeur

Biochimie métabolique
Cl. Audigié, F. Zonszain, 3e édition

Biochimie structurale
Cl. Audigié, F. Zonszain, 2e édition

Principes des méthodes d'analyse biochimique
Cl. Audigié, G. Dupont, F. Zonszain
Tome 1, 2e édition
Tome 2, 2e édition

Exercices de biochimie
F. Lafont, C. Plas, P. Cazaubon, 2e édition

Biotechnologies. Principes et méthodes
M. Larpent-Gourgaud, J.-J. Sanglier

Génie enzymatique. Travaux pratiques
D. Loncle

Génie génétique
D. Loncle, M. Amaudric, C. Jacoty

Manipulations d'analyse biochimique
M. Gavrilovic, M.-J. Maginot, Cl. Schwartz-Gavrilovic, J. Wallach
3e édition revue et corrigée

Précis de physiologie
A. Calas, J.-F. Perrin, C. Plas, P. Vanneste

Expérience faciles et moins faciles en sciences biologiques
R. Perrier, T. Auffret van der Kemp, F. Zonszain

Éléments de biologie cellulaire
D. Robert, B. Vian, 3e édition, 2004

Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés
A. Meyer, J. Deiana, A. Bernard, 2e édition, 2004

Microbiologie et toxicologie des aliments
G. Leyral, E. Vierling

Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires
G. Bonnefoy, F. Guillet, G. Leyral, F. Verne

Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique
G. Coutouly, E. Klein, E. Barbieri, M. Kriat

BIOSCIENCES
ET TECHNIQUES

Collection dirigée
par J. Figarella et A. Calas

Analyses biologiques

Sujets de BTS corrigés

Joëlle Allay
Martine Charrin
Christian Plas
Martine Rivière
Patrick Vanneste
Sylvain Vanneste

1e édition

doin



DOIN EDITEURS

Wolters Kluwer France

1, rue Eugène et Armand Peugeot

92856 Rueil-Malmaison cedex

ISBN 2-7040-1081-1

Plan général *

* Dans cet ouvrage, les pages comportant les corrigés sont repérées par la présence d'une bande grisée en marge.

Avant-propos

Enseignant en classes de BTS Analyses biologiques depuis de nombreuses années, nous avons ressenti le besoin pour nos élèves d'un ouvrage regroupant, dans les différentes disciplines scientifiques, des sujets et leurs corrigés commentés.

Cet ouvrage est donc destiné aux futurs candidats au BTS Analyses biologiques. Il s'adresse également aux étudiants préparant le DUT Biologie appliquée, option Analyses biologiques et biochimiques, ou le DETAB.

Il couvre l'ensemble des disciplines scientifiques de l'examen du BTS Analyses biologiques : mathématiques, physique et chimie, biochimie, biologie humaine, microbiologie, virologie, immunologie, hématologie, histologie, parasitologie.

Les sujets de 1995 à 2000 sont présentés et corrigés. Les corrections sont détaillées et les explications font souvent l'objet de rappels non exigés des candidats lors de l'examen.

Il permet donc aux étudiants une révision des différentes disciplines scientifiques abordées pendant leurs études et une préparation efficace.

Nous serons reconnaissants aux lecteurs, enseignants et étudiants, de nous faire part de leurs remarques et suggestions.

Les auteurs tiennent à remercier tout particulièrement Paul Bénichou pour sa participation à la rédaction des corrigés de mathématiques.

Les auteurs

DONNÉES PRÉLIMINAIRES

Masse atomique relative des principaux éléments chimiques

Aluminium	Al	26,98
Argent	Ag	107,87
Arsenic	As	74,92
Azote	N	14,01
Baryum	Ba	137,34
Bore	B	10,81
Brome	Br	79,91
Calcium	Ca	40,08
Carbone	C	12,01
Chlore	Cl	35,45
Chrome	Cr	52,00
Cobalt	Co	58,93
Cuivre	Cu	63,54
Etain	Sn	118,69
Fer	Fe	55,85
Fluor	F	19,00
Hydrogène	H	1,01
Iode	I	126,90
Lithium	Li	6,94
Magnésium	Mg	24,31
Manganèse	Mn	54,94
Mercure	Hg	200,59
Molybdène	Mo	95,94
Nickel	Ni	58,71
Oxygène	O	16,00
Phosphore	P	30,97
Plomb	Pb	207,19
Potassium	K	39,10
Silicium	Si	28,09
Sodium	Na	22,99
Soufre	S	32,06
Tungstène	W	183,85
Vanadium	V	50,94
Zinc	Zn	65,37

Système international d'unités

Le système international d'unités (SI) a été introduit en France en 1961 ; il a pour but d'unifier les systèmes d'unités entre les différents pays. Les symboles des unités sont exprimés en caractères romains minuscules (ou majuscules dans le cas d'unités dérivant de noms propres). Les symboles des unités sont invariables et ne sont pas suivis d'un point.

Les unités SI de base

Grandeur	**Unité**	**Symbole**
longueur	mètre	m
masse	kilogramme	kg
temps	seconde	s
intensité de courant électrique	ampère	A
température thermodynamique	kelvin	K
quantité de matière	mole	mol
intensité lumineuse	candéla	cd

Les unités SI supplémentaires

angle plan	radian	rad
angle solide	stéradian	sr

Les unités SI dérivées sont exprimées algébriquement à partir des unités de base et des unités supplémentaires :

superficie	mètre carré		m^2
volume	mètre cube		m^3
vitesse	mètre par seconde		m/s
accélération	mètre par seconde carrée		m/s^2
masse volumique	kilogramme par mètre cube		kg/m^3
concentration (de quantité de matière)	mole par mètre cube		mol/m^3
fréquence	hertz	Hz	s^{-1}
force	newton	N	$m.kg.s^{-2}$
pression	pascal	Pa	N/m^2
énergie	joule	J	N.m
puissance	watt	W	J/s
charge électrique	coulomb	C	A.s
potentiel électrique	volt	V	W/A
capacité électrique	farad	F	C/V
résistance électrique	ohm	Ω	V/A
conductance	siemens	S	A/V
flux d'induction magnétique	weber	Wb	V.s
induction magnétique	tesla	T	Wb/m^2
inductance	henry	H	Wb/A
flux lumineux	lumen	lm	cd.sr
éclairement lumineux	lux	lx	lm/m^2
activité (rayonnements ionisants)	becquerel	Bq	s^{-1}
dose absorbée	gray	Gy	J/kg
température Celsius	degré Celsius	°C	
t (°C) = T (K) – 273,15			
etc.			

Une seule barre au maximum doit être utilisée dans l'écriture des unités composées.

Multiples et sous-multiples décimaux des unités SI

Les symboles des préfixes sont écrits en caractères romains sans espace entre le symbole du préfixe et celui de l'unité. Si un symbole contenant un préfixe est affecté d'un exposant, cela indique que le multiple ou le sous-multiple de l'unité est élevé à la puissance exprimée par l'exposant.

exemple : $1\ cm^3 = (10^{-2}\ m)^3 = 10^{-6}\ m^3$

Facteur	Préfixe	Symbole	Facteur	Préfixe	Symbole
10^{-1}	déci	d	10	déca	da
10^{-2}	centi	c	10^2	hecto	h
10^{-3}	milli	m	10^3	kilo	k
10^{-6}	micro	µ	10^6	méga	M
10^{-9}	nano	n	10^9	giga	G
10^{-12}	pico	p	10^{12}	téra	T
10^{-15}	femto	f	10^{15}	pétra	P
10^{-18}	atto	a	10^{18}	exa	E

Unités en dehors du système SI

Nom	Symbole	Valeur en unité SI
minute	min	1 min = 60 s
heure	h	1 h = 60 min = 3 600 s
jour	d	1 d = 24 h = 86 400 s
degré (d'angle)	°	1 ° = (π/180) rad
minute (d'angle)	'	1 ' = (1/60)°
seconde (d'angle)	"	1 " = (1/60)'
litre	L	$1\ L = 1\ dm^3 = 10^{-3}\ m^3$
tonne	t	$1\ t = 10^3\ kg$
atmosphère	atm	1 atm = 101 325 Pa
bar	bar	$1\ bar = 10^5\ Pa$
curie	Ci	$1\ Ci = 3{,}7.10^{10}\ Bq$
röntgen	R	$1\ R = 2{,}58.10^{-4}\ C/kg$
rad	rad	$1\ rad = 1\ cGy = 10^{-2}\ Gy$
etc.		

Grandeurs et unités utilisées en biologie

Application du système international d'unités à la biologie clinique (1978)

Grandeur	Unité recommandée	(autre unité)
volume	dm^3 ou L	
masse	g, mg, µg, ng	
quantité de matière	mol, mmol, µmol, nmol	
concentration de masse	g/dm^3 ou g/L	
	mg/dm^3 ou mol/L...	
concentration de substance	mol/dm^3 ou mol/L	(mEq/L)
	$mmol/dm^3$ ou mmol/L...	
masse molaire	g/mol	
masse moléculaire		$\left(\mathrm{Da}\left(1 \text{ dalton} \Leftrightarrow \frac{1}{6{,}02.10^{23}} \mathrm{g/mol}\right)\right)$
fraction de masse	g/g	
fraction de mole	mol/mol	
fraction volumique	L/L	
activité catalytique	kat (mol/s)	(UI (µmol/min))
concentration d'activité catalytique	Kat/L	(UI/L)
pression osmotique	Pa, kPa	(mosm/L)
pression partielle	Pa, kPa	(mmHg)
clairance	mL/s	(mL/min, L/24 h)
etc.		

Abréviations pour la description et la qualification du système

Ex	matières expectorées	a	artériel
Ery	érythrocyte	c	capillaire
F	fèces	v	veineux
Hb	hémoglobine	j	à jeun
LCR	liquide céphalo-rachidien	d	24 heures
Lkc	leucocyte	Ad	adulte
Pt	patient	H	homme
P ou Pl	plasma	F	femme
S ou Se	sérum	E	enfant
Sg	sang	NN	nouveau-né
U	urine		
etc.			

Abréviations pour les types de grandeurs

catc.	concentration catalytique
clair.	clairance
cont.	contenu
masc.	concentration de masse
masfr.	fraction de masse
molfr.	fraction de mole
nombc.	concentration de nombre
pp.	pression partielle
qm.	quantité de masse
qs.	quantité de substance
substc.	concentration de substance
volfr.	fraction volumique
etc.	



BIOLOGIE HUMAINE

Biologie humaine

	Énoncés	Corrigés*

* Dans cet ouvrage, les pages comportant les corrigés sont repérées par la présence d'une bande grisée en marge.

BIOLOGIE HUMAINE 1995 : LES ENZYMES AU LABORATOIRE D'ANALYSES MÉDICALES

(corrigé pp. 45-51)

Au laboratoire d'analyses médicales, les enzymes ont une place prépondérante dans l'établissement du diagnostic et dans le suivi thérapeutique.

Elles sont utilisées comme paramètres biologiques ou comme outils technologiques dans certains dosages.

1. Les enzymes, paramètres du diagnostic biologique

1.1. Infections à staphylocoques

Pour assurer le diagnostic et prescrire le traitement des infections bactériennes, le laboratoire met en évidence un certain nombre d'enzymes.

1.1.1. De nombreuses enzymes interviennent dans le pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus*. Présenter les étapes d'une infection purulente à *Staphylococcus aureus* dans lesquelles interviennent ces différentes enzymes et expliquer le rôle de ces enzymes.

1.1.2. À partir de coques à Gram positif isolés lors d'une infection, indiquer les enzymes recherchées pour identifier *Staphylococcus aureus*. Préciser comment s'effectuent ces recherches enzymatiques et donner leur intérêt taxonomique.

1.1.3. Afin de prescrire une antibiothérapie efficace contre *Staphylococcus aureus*, la présence d'une bêta-lactamase doit être recherchée.

- Quelle différence génétique existe-t-il entre les souches productrices et les souches non productrices de bêta-lactamase ?
- Quel est le mécanisme d'action d'une bêta-lactamase ?
- Décrire une méthode de détection d'une bêta-lactamase staphylococcique.
- Toutes les résistances aux bêta-lactamines rencontrées chez *Staphylococcus aureus* s'expliquent-elles par un mécanisme enzymatique ? Justifier la réponse.

1.2. Pancréatite aiguë

Un des éléments du diagnostic d'une pancréatite aiguë consiste en une détermination des concentrations d'activité catalytique de la lipase et de l'α-amylase sériques.

1.2.1. Lipase et α-amylase pancréatiques

- Indiquer les cellules pancréatiques responsables de leur synthèse et le lieu d'action de ces deux enzymes.
- Schématiser la réaction catalysée par chaque enzyme.
- L'action de la lipase est facilitée par la bile et par la présence d'une protéine activatrice, la colipase. Donner le rôle de la bile dans la digestion des lipides.

– Justifier l'augmentation de la concentration sérique de ces deux enzymes lors d'une pancréatite aiguë.

1.2.2. Détermination de l'α-amylasémie

1.2.2.1. L'α-amylase sérique totale est formée de deux iso-enzymes : pancréatique P et salivaire S. Définir les termes : formes multiples d'enzymes et iso-enzymes.

1.2.2.2. Expliquer pourquoi l'activité α-amylasique peut être mesurée à la fois dans le plasma et dans l'urine, contrairement à l'activité de la phosphatase alcaline qui n'est mesurable que dans le plasma.

Quelle hypothèse peut-on faire sur le comportement du tubule rénal vis-à-vis de la lipase pancréatique dont l'activité n'est pas mesurable dans l'urine définitive ?

Données : masses molaires :

α-amylase :	50 000 $g.mol^{-1}$
hémoglobine :	64 000 $g.mol^{-1}$
phosphatase alcaline :	140 000 $g.mol^{-1}$
lipase pancréatique :	48 000 $g.mol^{-1}$

1.2.2.3. Les activités α-amylasiques totales peuvent être déterminées par une méthode colorimétrique.

Détermination de l'activité amylasique

$CNPG_3$: un substrat direct pour la détermination de l'amylase sérique

PRINCIPE

$$5\ CNPG_3 \xrightarrow{\alpha\text{-amylase}} 3\ CNP + 3\ \text{maltotriose} + 2\ CNPG_2 + 2\ \text{glucose}$$

L'activité α-amylase est mesurée selon un mode cinétique colorimétrique.

Le 2-chloro-4-nitrophényl maltotrioside ($CNPG_3$) est hydrolysé par l'α-amylase en produisant directement du 2-chloro-4-nitrophénol (CNP).

La vitesse d'apparition du 2-chloro-4-nitrophénol suivie à 405 nm est directement proportionnelle à l'activité de l'α-amylase.

Une autre méthode que celle décrite dans le document ci-dessus consiste à incuber le plasma dans des tubes sur lesquels sont fixés en excès des anticorps monoclonaux anti α-amylase pancréatique P. Cette incubation est suivie d'un lavage, puis la réaction colorimétrique a lieu dans les tubes.

Quel est l'intérêt de cette méthode immunologique par rapport à la précédente ?

1.2.3. Détermination de la lipasémie

L'activité lipasique totale du sérum implique trois enzymes : lipase pancréatique P, triglycéride lipase hépatique, lipoprotéine lipase.

Donner le lieu d'action et le rôle physiologique de la lipoprotéine lipase.

1.2.4. Résultats

Le tableau suivant donne les résultats statistiques obtenus chez 35 patients atteints de pancréatite aiguë.

Enzymes sériques	Temps d'apparition du pic d'activité maximale	Augmentation relative maximale de l'activité par rapport au taux de base	Temps du retour au taux de base en heures
α-amylase totale	47	× 5	113
α-amylase pancréatique P	47	× 6,4	113
Lipase totale	45	× 16,7	137
Lipase pancréatique P	45	× 90,4	137

Analyser les résultats statistiques du tableau.

Conclure sur le pouvoir diagnostique de ces tests enzymatiques dans le cas d'une pancréatite aiguë.

1.3. Déficit immunitaire : étude du système du complément

L'exploration de l'immunité comporte, entre autres examens, l'étude du système du complément.

- Définir le terme « complément » et indiquer brièvement ses caractéristiques de fonctionnement.
- Donner le principe d'une méthode d'analyse explorant un déficit immunitaire par anomalie du complément.

2. Les enzymes, outils technologiques

2.1. Dosage enzymatique d'un substrat : le cholestérol

Cholestérol libre PAP

Détermination enzymatique du cholestérol libre

PRINCIPE

$$\text{Cholestérol} + O_2 \xrightarrow{\text{cholestéroloxydase}} \text{cholestène-4, one 3} + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{phénol} + \text{amino-4-antipyrine} \xrightarrow{\text{peroxydase}} \text{quinonéimine} + 4\ H_2O$$

Valeurs usuelles :

22-30 % du cholestérol total

RÉACTIFS

Concentrations dans le test :

Réactif 1	tampon phosphate	0,1	mol/L
Tampon	phénol	15	mmol/L
	cholate de sodium	3,74	mmol/L
	agent tensio-actif		
Réactif 2	amino-4-antipyrine	0,5	mmol/L
Enzymes	peroxydase	⩾ 1 000	U/L
	cholestérol oxydase	⩾ 200	U/L

Échantillons

Sérum ou plasma recueilli sur héparine ou EDTA

Mode opératoire

Solution de travail :
Visser à fond le bouchon adaptateur sur le col du flacon de Réactif 1.
Introduire le col du flacon de Réactif 2 sur l'autre extrémité de l'adaptateur.
Mélanger par retournements et conserver la solution de travail dans le flacon de Réactif 1.

Stabilité :
– 2 semaines à 20-25 °C
– 6 semaines à 2-8 °C

Longueur d'onde : 500 nm (Hg 546)
Zéro de l'appareil : blanc réactif

	Blanc réactif	Dosage
Échantillon		10 µL
Solution de travail	1 mL	1 mL

Mélanger.

Photométrer après une incubation de 5 min à 37 °C ou de 10 min à 20-25 °C.

Stabilité de la coloration : 30 min

Linéarité : 18 mmol/L (7 g/L)

2.1.1. Pour chacune des réactions du dosage, indiquer le facteur limitant. À quelles conditions de concentration doivent satisfaire les constituants du chromogène ?

Justifier les concentrations d'activité catalytique élevées pour les enzymes utilisées.

2.1.2. La peroxydase

2.1.2.1. Dans la réaction indicatrice catalysée par la peroxydase (E.C.1.11.1.7 ou donneur : H_2O_2 oxydoréductase), le chromogène utilisé est

le chromogène de Trinder ou PAP (phénol + amino-4-antipyrine) qui permet d'éliminer au mieux les interférences dues aux substances réductrices contenues dans le sang (par exemple : glutathion, acide ascorbique). En effet, la peroxydase a plus d'affinité pour le PAP que pour ces composés.

- Quel paramètre cinétique permet d'estimer cette affinité ? Comment le détermine-t-on expérimentalement ?
- Si le patient absorbait une dose très importante de vitamine C (acide ascorbique) peu de temps avant le prélèvement de sang, le résultat du dosage risquerait d'être modifié. Dans quel sens ? Justifier.

2.1.2.2. La peroxydase peut être contaminée par la catalase (E.C.1.11.1.6 ou H_2O_2 : H_2O_2 oxydoréductase). Écrire la réaction catalysée par la catalase. Quel serait l'effet de cette contamination sur le résultat du dosage ? Justifier.

2.2. Dosage d'un médicament : l'héparine

2.2.1. Dosage de l'héparine.

Mode opératoire

Réactifs :

- facteur Xa
- antithrombine III (AT III)
- chromogène CH_3SO_2 -D Leu -Gly -Arg -pNA* (* paranitroaniline)
- tampon TRIS EDTA pH 8,4
- plasmas étalons à 0,2; 0,4; 0,6 UI d'héparine /mL
- acide acétique

Mode opératoire :

Dilution des plasmas :

– plasma à tester ou étalon	100 µL
– AT III	100 µL
– tampon pH 8,4	800 µL
Mélanger.	

Dosage :

Dans un tube à 37 °C	
– plasma dilué	200 µL
Incuber pendant un temps (t1) = 2 min	
– facteur Xa	200 µL
Incuber pendant un temps (t2) = 30 s	
– chromogène	200 µL
Incuber pendant un temps (t3) = 30 s	
– acide acétique	200 µL
Mélanger et mesurer l'absorbance à 405 nm.	

À partir du mode opératoire, établir la séquence des réactions. Indiquer quels sont l'enzyme, le substrat et l'inhibiteur. Préciser le rôle de l'antithrombine III et de l'acide acétique.

2.2.2. Que se passe-t-il pendant les temps d'incubation t1, t2 et t3 ? Doivent-ils être respectés rigoureusement ? Pourquoi ?

2.2.3. Un témoin est nécessaire. Comment est-il réalisé ?

2.2.4. Héparinothérapie.

Quelles en sont les indications ? Indiquer, en les justifiant, les examens à pratiquer avant une héparinothérapie. Pourquoi celle-ci doit-elle être surveillée ? Citer deux tests de surveillance.

2.3. Sérodiagnostic immuno-enzymatique de la toxoplasmose

Le couplage entre un anticorps ou un antigène et une enzyme est la base des techniques immuno-enzymologiques.

Par la méthode ELISA de type immunocapture, sont recherchés les anticorps antitoxoplasmiques de classe IgM.

2.3.1. Quel est l'intérêt de la recherche des anticorps de classe IgM ?

2.3.2. Quel est le rôle de chacun des deux éléments d'un conjugué anticorps-enzyme ?

2.3.3. En utilisant le document ci-dessous, présenter, en les justifiant, les différentes étapes de la méthode ELISA de type immunocapture.

Recherche d'anticorps antitoxoplasmiques de classe IgM

Méthode ELISA de type immunocapture

Réactifs :

- Antigène toxoplasmique protéique purifié : protéine P30
- Anticorps monoclonal anti P30 couplé à la phosphatase alcaline
- Anticorps monoclonal murin anti chaîne μ humaine
- NaOH 0,2 $mol.L^{-1}$
- PNPP* en tampon pH 10

(*paranitrophénylphosphate)

BIOLOGIE HUMAINE 1996

(corrigé pp. 51-58)

Les protéines assurent de multiples fonctions : enzymes, molécules informatives, marqueurs cellulaires, molécules de défense.

Une caractéristique constante de leur mode d'action est la faculté de se lier spécifiquement à d'autres molécules (ligands).

L'intérêt de ces liaisons protéine-ligand sera étudié à différents niveaux :
– intracellulaire : la contraction musculaire ;
– extracellulaire : les protéines plasmatiques ;
– membranaire : la virulence microbienne.

1. Un mécanisme physiologique intracellulaire : la contraction musculaire

1.1. La contraction musculaire est due au glissement des filaments d'actine par rapport aux filaments de myosine.

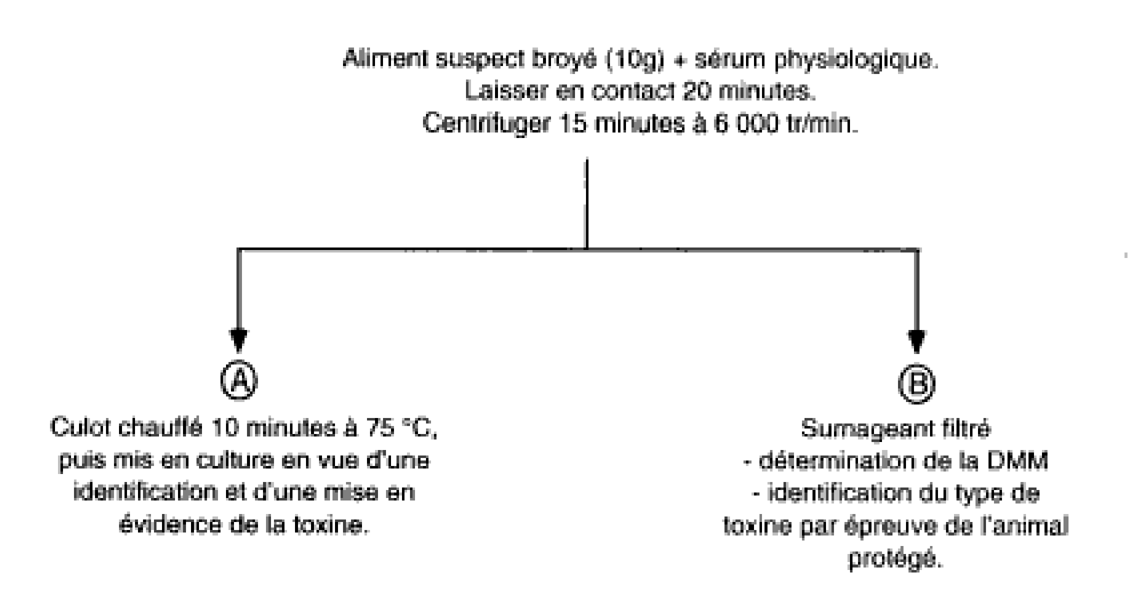
Décrire les phénomènes biochimiques qui expliquent ce glissement.

1.2. La toxine botulique (ou botulinique) bloque la transmission neuro-musculaire.

1.2.1. Définir le terme « toxine ». Proposer une classification des toxines, en indiquant pour chaque groupe leur nature chimique, leur localisation, leurs propriétés antigéniques et toxiques. Situer la toxine botulique dans cette classification.

1.2.2. Préciser le niveau d'action de la toxine botulique dans le mécanisme de la transmission synaptique.

1.3. À la suite d'une intoxication alimentaire, l'hypothèse de botulisme est formulée. Une recherche de toxine est effectuée selon le protocole ci-dessous :



1.3.1. Quelle forme bactérienne sélectionne-t-on en A ? En faire un schéma légendé et justifier la réponse.

1.3.2. Quelle atmosphère d'incubation faut-il respecter pour la mise en culture du culot ? Justifier ce choix. Quelles sont les particularités métaboliques de la bactérie sélectionnée ?

1.3.3. Définir la DMM.

1.3.4. Donner le principe de la réaction immunologique utilisée en B, présenter un exemple de résultat.

1.3.5. Pourquoi est-il nécessaire de déterminer la DMM préalablement à l'identification de la toxine ?

1.3.6. Au cours de la réaction immunologique étudiée en 1.3.4., il s'établit des liaisons faibles entre antigène et anticorps.

Préciser les régions concernées et la nature des liaisons faibles impliquées.

2. Protéines extracellulaires et diagnostic : érythropoïétine et enzymes plasmatiques

2.1. L'érythropoïétine est une protéine plasmatique qui intervient dans la régulation de l'érythropoïèse en se liant à des récepteurs cellulaires spécifiques.

2.1.1. Action de l'érythropoïétine.

2.1.1.1. Préciser le(s) lieu(x) de production et le(s) facteur(s) qui modifient cette production.

2.1.1.2. Pourquoi l'érythropoïétine peut-elle être considérée comme une hormone ?

2.1.1.3. Pour la lignée concernée, citer dans l'ordre chronologique le nom des stades de différenciation à partir de la cellule souche. Indiquer les principales actions de l'érythropoïétine.

2.1.2. Certains sportifs se dopent par administration d'érythropoïétine recombinante.

2.1.2.1. Préciser quelles sont les modifications de l'hémogramme provoquées par ce dopage. Expliquer en quoi cela représente un dopage. En l'absence de tout renseignement sur le patient, quelle serait l'hypothèse de diagnostic formulée devant ce type d'hémogramme ?

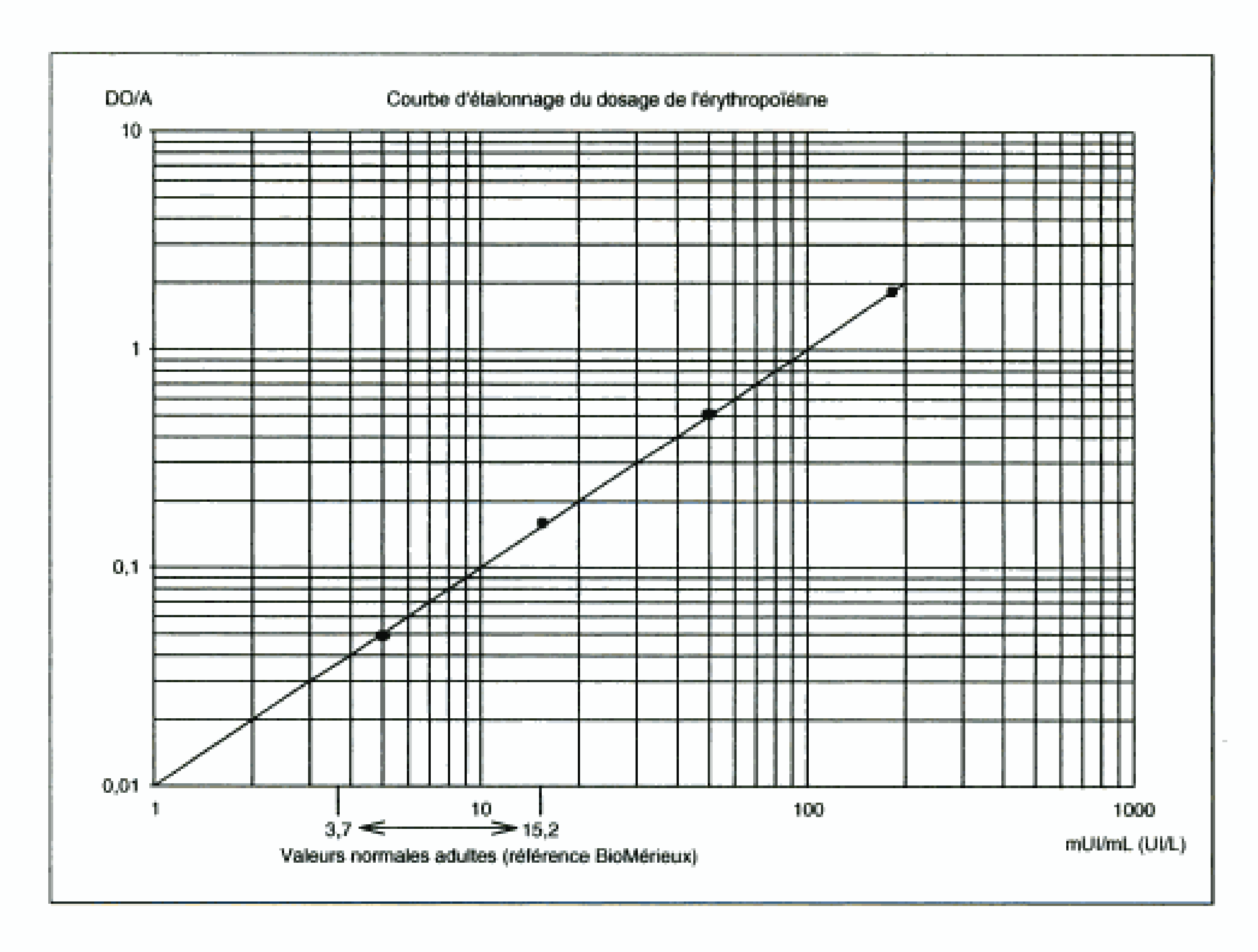
2.1.2.2. Quel facteur faut-il modifier dans le programme d'entraînement des sportifs pour obtenir les mêmes effets sans administration de substance chimique ?

Justifier la réponse.

2.1.2.3. Le document ci-dessous présente des réactifs utilisés pour le dosage de l'érythropoïétine.

Réactifs bioMérieux utilisés pour le dosage de l'érythropoïétine (EPO) Composition du coffret (2 × 48 tubes) Conservation à 2-8 °C. La date limite d'utilisation est indiquée sur chaque conditionnement.		
	RÉACTIFS ÉRYTHROPOÏÉTINE :	
R1 2 × 48 tubes	Tubes anti-EPO Tubes en polystyrène recouverts d'anticorps monoclonaux de souris anti-EPO	Prêt à l'emploi. Après ouverture du blister transférer les tubes non utilisés et le déshydratant dans le sachet. Stabilité : 2 mois à 2-8 °C
R2-0 1 × 6 mL (liquide) R2-A à R2-D 4 (1 × 2 mL) (lyoph.)	Étalons EPO Pour chaque lot les concentrations exactes sont indiquées sur le flacon (entre 0 et 180 mUI/mL)	R2-0 R2-A à R2-D : Reprendre par 2 mL d'eau distillée. Attendre 5 à 10 min puis homogénéiser. Stabilité après reprise : 2 semaines à 2-8 °C. Au-delà congeler (5 cycles de congélation/décongélation possibles).
R3 1 × 2 mL (lyoph.)	Contrôle Sérum humain	Reprendre par 2 mL d'eau distillée. Attendre 5 à 10 min puis homogénéiser. Stabilité après reprise : 2 semaines à 2-8 °C. Au-delà congeler (5 cycles de congélation/décongélation possibles).
R4 1 × 11 mL (liquide)	Conjugué anti-EPO Anticorps monoclonal de souris anti-EPO marqué à la peroxydase du raifort	Prêt à l'emploi.
	RÉACTIFS COLOR EIA :	
Color 0 1 × 70 mL	Solution de lavage (concentrée) Phosphate de sodium, chlorure de sodium Tween 20 (merthiolate de sodium)	Préparation de la solution de lavage diluée : Compléter la solution de lavage à 2 000 mL avec de l'eau distillée (1 volume pour 28 volumes). Stabilité après dilution : – à 18-25 °C : 1 semaine; – à 2-8 °C : jusqu'à la limite d'utilisation du coffret.
Color 1 1 fl. de 17 comprimés	Chromogène orthophénylène diamine (OPD) dichlorhydrate	Préparation de la solution de révélation : Dissoudre extemporanément les comprimés de Color 1 prélevés avec la pince dans le diluant Color 2 (1 comprimé pour 5 mL) : – pour 16 tubes : 2 comprimés dans 10 mL; – pour 32 tubes : 4 comprimés dans 20 mL; – pour 64 tubes : 8 comprimés dans 40 mL; – pour 80 tubes : 10 comprimés dans 50 mL. Attendre 2 à 3 min pour obtenir une dissolution. Éliminer les bulles par agitation. Stabilité à l'abri de la lumière : 20 min à température ambiante.
Color 2 1 × 85 mL	Diluant de Color 1 Phosphate de sodium, acide citrique H_2O_2	
Color 3 1 × 220 mL	Agent bloquant H_2SO_4 0,9 $mol.L^{-1}$ RÉACTIF IRRITANT	Prêt à l'emploi.
	ACCESSOIRES :	
	Pince pour la manipulation des comprimés de Color 1. Sachet pour conserver à 2-8 °C les tubes (R1) non utilisés. Papier graphique.	

Expliquer le principe de cette technique de dosage.



2.2. Les enzymes plasmatiques présentent un grand intérêt en biologie clinique.

2.2.1. Préciser l'origine des enzymes plasmatiques.

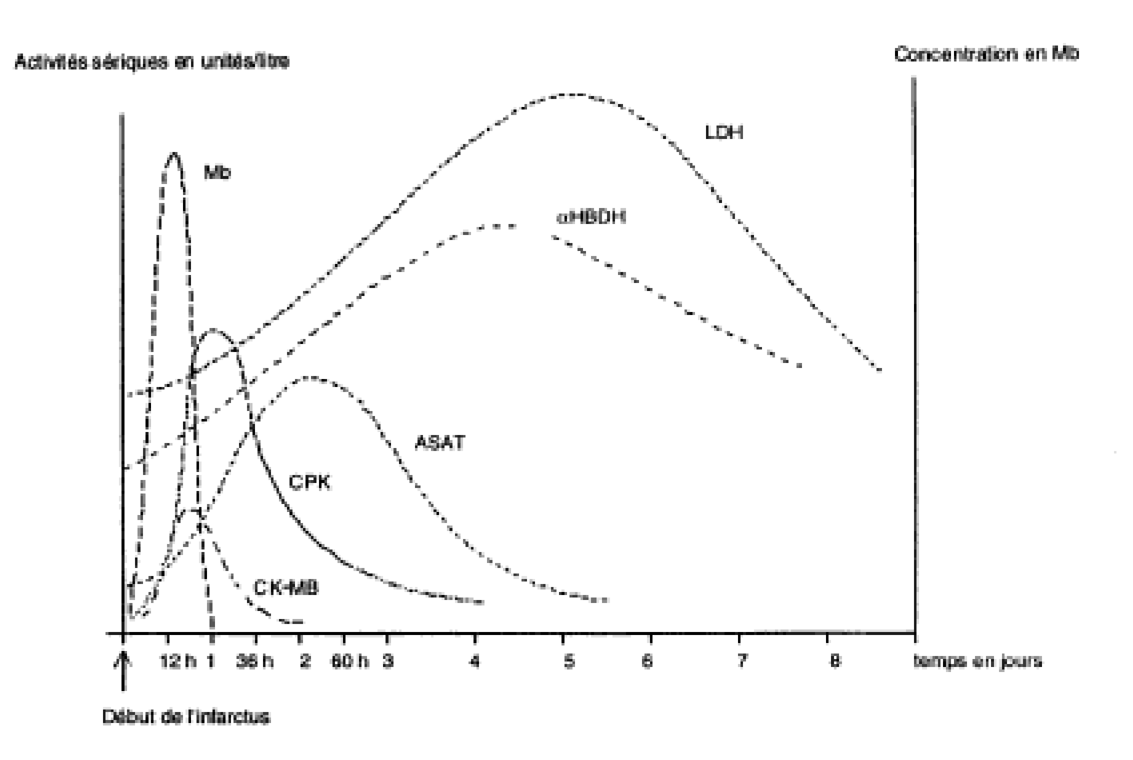
2.2.2. Quels intérêts présentent leur identification et leur dosage en biologie clinique ?

Préciser la notion de profil enzymatique.

2.2.3. Dans le bilan cardiaque, la lactate déshydrogénase (LDH) et la créatine kinase (iso-enzyme MB) sont des enzymes essentielles.

Représentation graphique de l'évolution des marqueurs au cours de l'infarctus

ASAT	aspartate amino-transférase
LDH	lactate déshydrogénase
α-HBDH	alpha-hydroxybutyrate-déshydrogénase
CPK	créatine phosphokinase
CK-MB	isoenzyme MB de CPK
Mb	myoglobine



À l'aide du document, montrer l'intérêt du dosage de chacune de ces enzymes.

2.2.4. Les différentes iso-enzymes de la LDH peuvent être séparées par chromatographie d'affinité sur 5'-AMP-sépharose.

2.2.4.1. Écrire l'équation de la réaction catalysée par la LDH dans la cellule.

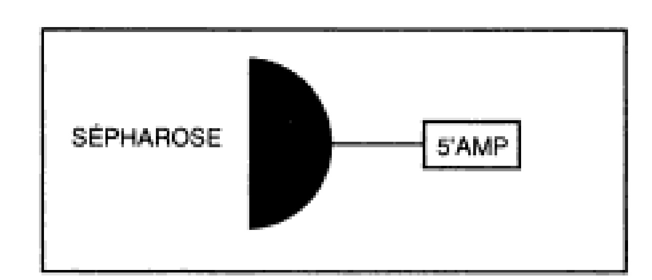
Indiquer le rôle de cette enzyme dans les métabolismes hépatique et musculaire.

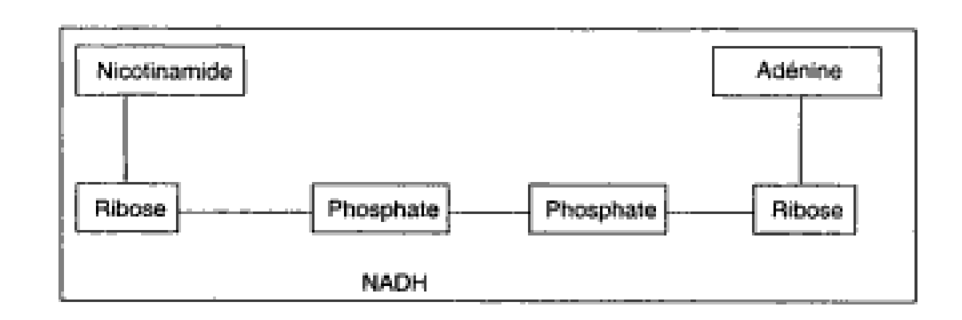
2.2.4.2. Préciser l'intérêt du dosage des iso-enzymes de la LDH dans le bilan cardiaque.

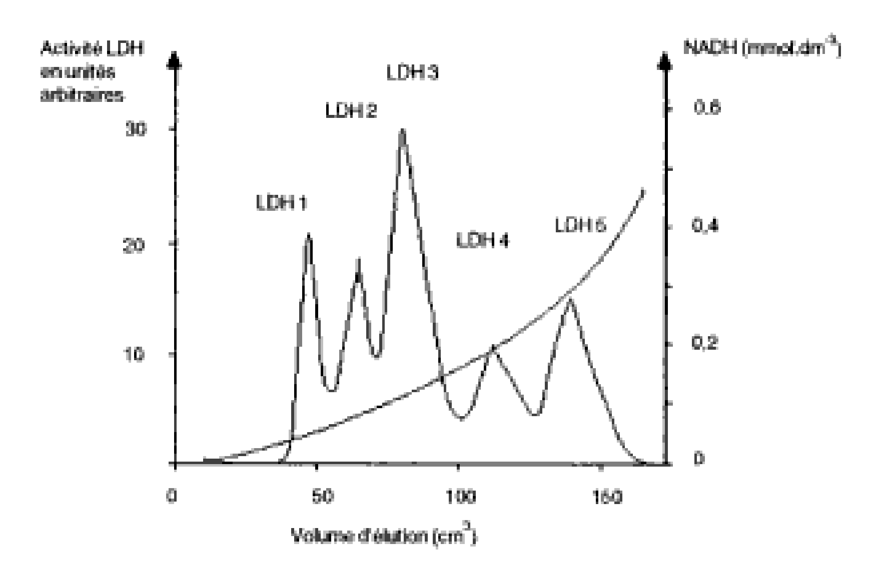
2.2.4.3. À l'aide du document suivant :

– Expliquer pourquoi le 5'-AMP-sépharose est capable de fixer les iso-enzymes de la LDH.

– Justifier l'utilisation du NADH pour éluer les différentes fractions.







Élution des iso-enzymes – LDH par un gradient de NADH

CHROMATOGRAPHIE D'AFFINITÉ SUR 5'-AMP-SÉPHAROSE

3. Protéines membranaires et virulence des micro-organismes

3.1. Les mannoprotéines de surface de *Candida albicans* permettent l'adhésion de ces micro-organismes sur les récepteurs des cellules hôtes animales ou humaines.

3.1.1. Citer les principales manifestations cliniques des infections dues à *Candida albicans*.

3.1.2. Donner les différentes étapes nécessaires à la recherche et à l'identification de ces germes au laboratoire de mycologie.

3.2. Le virus d'Epstein-Barr (EBV) infecte plus de 90 % de la population humaine adulte en raison de son tropisme pour les lymphocytes B.

3.2.1. Préciser les lieux de formation et de maturation des lymphocytes B.

3.2.2. Le virus d'Epstein-Barr se fixe sur un marqueur lymphocytaire CD 21. Citer les principaux marqueurs caractéristiques des lymphocytes B matures.

3.2.3. *In vivo*, après sa fixation, le virus d'Epstein-Barr pénètre dans le lymphocyte B et entraîne son activation et son immortalisation.

3.2.3.1. Indiquer les interactions cellulaires nécessaires à la réponse immunitaire des lymphocytes B vis-à-vis d'un antigène thymodépendant. Préciser les médiateurs chimiques intervenant au cours de cette réponse et indiquer le devenir des lymphocytes B.

3.2.3.2. L'activation obtenue au cours d'une infection par le virus d'Epstein-Barr est polyclonale. Définir ce terme et le justifier dans ce cas.

BIOLOGIE HUMAINE 1997 : À PROPOS DES STREPTOCOQUES

(corrigé pp. 58-65)

1. Étude systématique et structurale des *Streptococcaceae*

1.1. Préciser les critères d'orientation de cette famille ?

1.2. Citer deux genres bactériens d'intérêt médical appartenant à la famille des *Streptococcaceae*.

1.3. Le polyoside C constitue le déterminant antigénique majeur des streptocoques groupables.

1.3.1. Quelle est la localisation de cette molécule ?

1.3.2. Le polyoside C du streptocoque A est composé de 38 molécules de rhamnose et de 17 molécules de β-N-acétyl-D-glucosamine.

– Préciser si cet antigène est thymodépendant ou thymo-indépendant.

– Nommer les cellules capables de reconnaître cet antigène.

– Présenter le mécanisme de reconnaissance de l'antigène.

1.3.3. Représenter la structure chimique linéaire du D-mannose sachant que le D-mannose est l'épimère du D-glucose en C2.

Représenter la structure chimique linéaire du L-mannose.

En déduire la structure linéaire du rhamnose qui est aussi le 6-désoxy-L-mannose.

1.4. L'acide hyaluronique, principal constituant de la capsule, est un polymère d'unités diosidiques de N-acétyl-D-glucosamine β-1,4 D-acide glucuronique reliées par des liaisons β-1,3

À l'aide des données du document, représenter la structure chimique en configuration de Haworth de l'unité de base de l'acide hyaluronique.

Structure de la N-acétyl-D-glucosamine	Structure de l'acide D-glucuronique
CH_2OH, O, OH, OH, (H, OH), NH - C(=O) - CH_3	COOH, O, OH, OH, (H, OH), OH

2. Métabolisme des *Streptococcaceae*

Les streptocoques mettent en œuvre une fermentation homolactique.

2.1. La fermentation du glucose par les streptocoques peut être étudiée sur le milieu cystine-trypticase-agar (CTA).

Présenter la technique d'utilisation de ce milieu.

Indiquer l'aspect du milieu après 24 heures d'incubation. Justifier les résultats obtenus.

2.2. Lors de la réaction, les couples redox suivants interviennent :

* Pyruvate / Lactate ; $E'_0 = -0{,}19$ volt (30 °C) ;
* NAD^+/ NADH ; $E'_0 = -0{,}32$ volt (30 °C).

– Écrire l'équation de la réaction d'oxydoréduction mise en jeu.

– Dans quel sens cette réaction se produit-elle dans les conditions standard ? Justifier la réponse.

– Comment s'appelle l'enzyme catalysant cette réaction ?

2.3. Donner les bilans :

– de la glycolyse ;

– d'une fermentation homolactique à partir du substrat glucose.

2.4. La pyruvate kinase

Cette enzyme catalyse la réaction :

PEP + ADP ⟶ pyruvate + ATP

2.4.1. Étude structurale.

La masse molaire de la pyruvate kinase a été déterminée par chromatographie d'exclusion-diffusion (ou gel filtration) sur Sephadex G200, elle est de 240 000 $g.mol^{-1}$. Lorsque l'enzyme est traitée par du SDS (sodium dodécyl-sulfate) et du 2-mercapto-éthanol, la masse molaire déterminée par électrophorèse en gel de polyacrylamide est de 60 000 $g.mol^{-1}$.

– Indiquer le principe de la gel filtration.

– Préciser le rôle du SDS et celui du 2-mercapto-éthanol.

– Quels renseignements apportent ces résultats sur la structure de l'enzyme ?

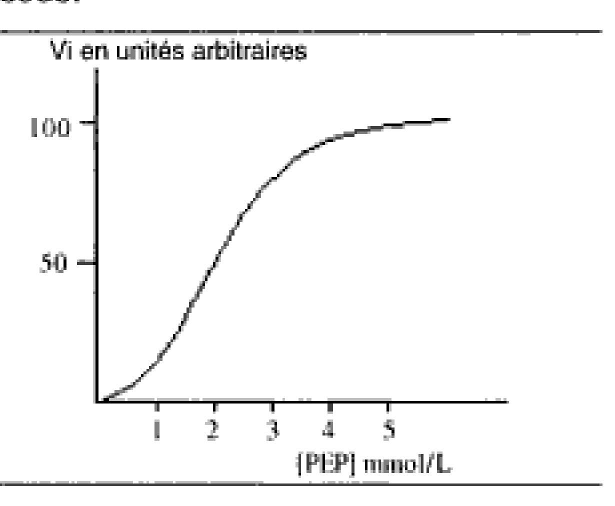
2.4.2. Étude cinétique.

– Commenter la courbe donnée ci-dessous.

Valeur de la vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration en PEP.

Conditions expérimentales :
[ADP] = 2 mmol.L^{-1}

pH, température et concentration en enzyme sont fixés et constants

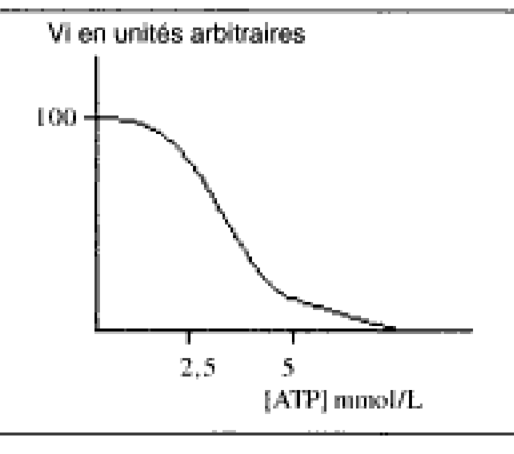


– Quelle conclusion peut-on tirer du document ci-dessous ?

Valeur de la vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration en ATP

Conditions expérimentales :
[ADP] = 2 mmol.L^{-1}
[PEP] = 5 mmol.L^{-1}

pH, température et concentration en enzyme sont fixés et constants



– Quel est l'intérêt métabolique du phénomène observé ?

3. Angines streptococciques et complications

3.1. Les angines aiguës sont des infections bactériennes ou virales pour lesquelles les micro-organismes mis en cause peuvent être les streptocoques du groupe A. Le diagnostic est effectué sur un prélèvement de gorge.

3.1.1. Indiquer trois facteurs de virulence importants chez les streptocoques pathogènes en précisant leur rôle.

3.1.2. Proposer un milieu sélectif d'isolement pour les streptocoques et préciser les conditions d'incubation.

Décrire l'aspect des colonies dans le cas des streptocoques du groupe A et celui des streptocoques de la flore commensale oropharyngée.

3.1.3. Comment poursuit-on l'analyse à partir du milieu d'isolement en vue de l'identification ? Présenter la technique d'identification utilisée (principe et protocole).

3.2. L'intérêt principal du dépistage des angines streptococciques est de prévenir le rhumatisme articulaire aigu (RAA), particulièrement chez les enfants et les adolescents. Le diagnostic du RAA est établi sur la base des résultats de titrages d'antistreptolysines O (ASLO).

– Présenter le principe du titrage des ASLO.

– Conclure dans le cas où le résultat est de 600 $UI.mL^{-1}$.

3.3. Certaines souches de streptocoques A ont la propriété de produire une toxine érythrogène responsable de l'éruption de la scarlatine au cours d'une angine. Ces souches sont lysogènes.

– Définir le mot « lysogène ».

– Comment peut-on expliquer la production de la toxine érythrogène par la souche lysogène ?

3.4. Une glomérulonéphrite aiguë (GNA) peut survenir comme le RAA à la suite d'une angine mal soignée, mais également à la suite d'infections cutanées.

La GNA est une maladie inflammatoire du glomérule rénal et des néphrons provoquant des lésions et un risque d'insuffisance rénale.

3.4.1. Parmi les dosages biochimiques prescrits lors d'une telle glomérulonéphrite, on trouve la détermination de la protéinurie, de la créatininémie et de la créatininurie.

– Donner la formule permettant le calcul de la clairance de la créatinine. Expliquer la signification et l'intérêt de ce paramètre.

– Expliquer comment la protéinurie, la créatininémie et la créatininurie sont susceptibles d'évoluer lors d'une glomérulonéphrite aiguë.

3.4.2. L'évolution de la GNA est surveillée en contrôlant régulièrement la leucocyturie par un compte d'Addis ou mesure du débit leucocytaire par minute.

Cet examen effectué chez un patient a donné les résultats suivants :

– volume d'urine émis en 3 heures : 300 cm^3 ;

– nombre de leucocytes comptés sur l'urine entière dans 8 bandes d'une cellule de Nageotte : 180.

La cellule de Nageotte est graduée en 40 bandes qui correspondent à un volume de 50 mm^3. Définir la leucocyturie.

– Calculer le débit de leucocytes par minute.

3.4.3. Au cours des GNA, il peut être intéressant de doser les antistreptodornases (ASD). Quels sont les antigènes correspondants ? Préciser leur activité enzymatique.

4. Endocardites infectieuses

La plupart (de 50 à 80 %) de ces endocardites se développent chez des malades souffrant de cardiopathies préexistantes.

4.1. Au cours de ces cardiopathies, peut se développer une pathologie de l'hémostase qui se traduit par les constatations suivantes :

– thrombopénie ;

– temps de Quick (TQ ou TP), pourcentage activité coagulante, très inférieur à la normale ;

– temps de céphaline activée (TCA) très allongé.

Indiquer, en le justifiant, à quel type de syndrome correspondent ces résultats. Un patient atteint par ce syndrome peut-il dans l'immédiat subir une intervention chirurgicale ?

4.2. Des streptocoques sont parfois apportés par le torrent circulatoire et peuvent adhérer aux amas fibrinoplaquettaires formés au cours de cette pathologie.

– Indiquer une porte d'entrée possible pour ces streptocoques mis en cause dans une endocardite infectieuse sur cardiopathie.

– Donner un exemple d'espèce en cause.

4.3. Un hémogramme, effectué chez un homme de quarante ans souffrant d'endocardite, a donné les résultats suivants :

globules blancs	$11.10^9.L^{-1}$
granulocytes neutrophiles	80 %
rouges	$3,9.10^{12}.L^{-1}$
hématocrite	$0,34\ L.L^{-1}$
hémoglobine	$102\ g.L^{-1}$
VGM	87 fL
CCMH	$300\ g.L^{-1}$
plaquettes	$150.10^9.L^{-1}$

4.3.1. Commenter et interpréter ces résultats.

4.3.2. Le traitement d'une endocardite infectieuse nécessite une action bactéricide. On instaure un traitement par la pénicilline G en intraveineuse associé à un autre antibiotique.

– Définir l'activité bactéricide *in vitro*.

– Donner un exemple d'antibiotique à associer à la pénicilline pour obtenir un effet bactéricide.

4.3.3. À la suite de ce traitement une éruption cutanée chez le malade fait craindre une allergie à la pénicilline. Les dosages des IgE totales et des IgE spécifiques de la pénicilline donnent des taux supérieurs aux valeurs de référence.

– Préciser à quel type d'hypersensibilité appartient cette allergie.

– Décrire :

* le phénomène physiopathologique au cours duquel interviennent les IgE ;

* les conséquences au niveau des tissus.

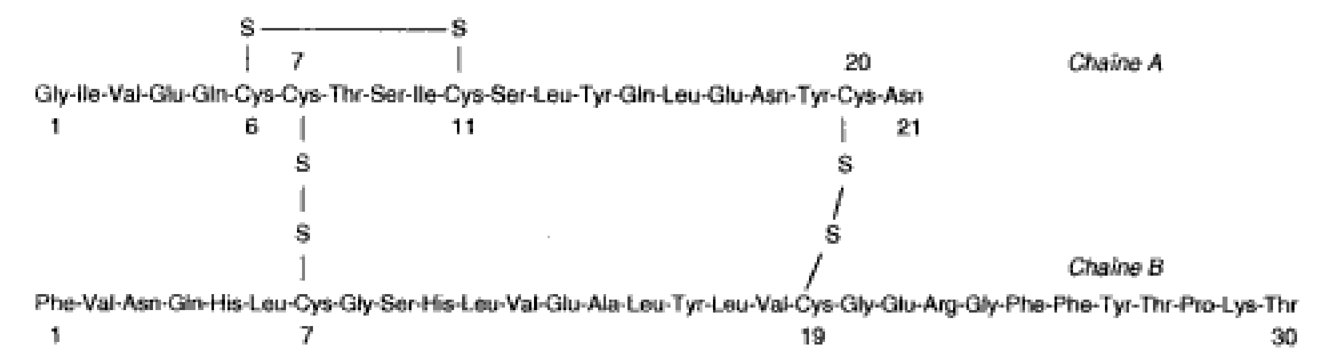
BIOLOGIE HUMAINE 1998 : LE DIABÈTE INSULINODÉPENDANT

(corrigé pp. 65-73)

1. L'insuline

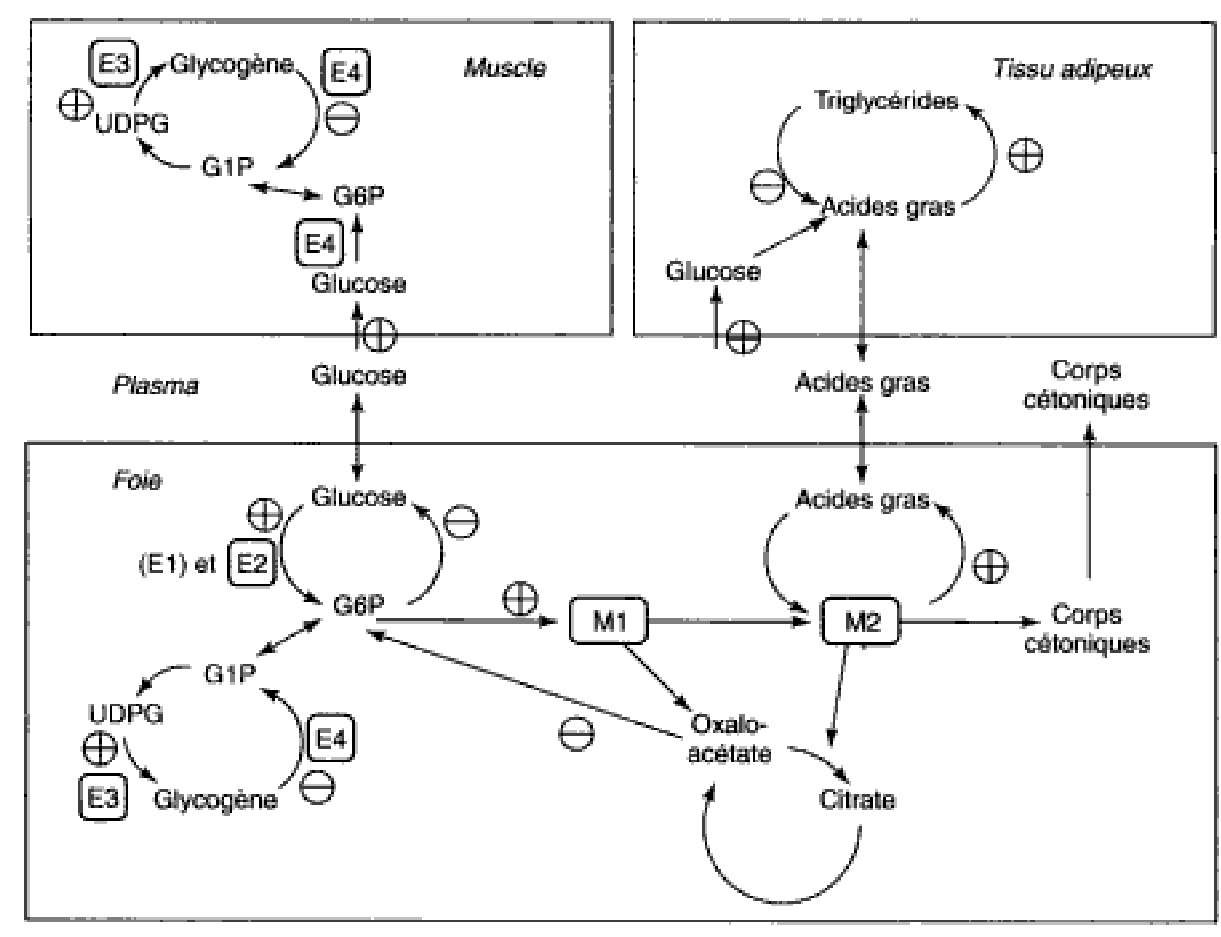
1.1. Biosynthèse et sécrétion de l'insuline

Le document présente la structure primaire de la molécule d'insuline.



– Exposer succinctement les étapes de la biosynthèse et de la sécrétion de l'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans, en précisant leur localisation intracellulaire.

1.2. Insuline et métabolisme énergétique



⊖ = Inhibition par l'insuline

⊕ = Activation par l'insuline

Le document présente un schéma simplifié du métabolisme énergétique et indique les principaux lieux d'action de l'insuline.

1.2.1. Entrée du glucose dans les cellules.

La diffusion du glucose à travers la membrane plasmique se fait grâce à une protéine de transport, qui diffère selon les types cellulaires :

Protéine de transport	Tissu	K_M pour le glucose (mmol/L)	Glycémie (mmol/L)
GluT2	Foie	20	Dans la veine porte : – à jeun = 1 – après un repas ≈ 20
GluT4	Muscle et tissu adipeux	5	5

1.2.1.1. On peut assimiler le fonctionnement du transporteur de glucose à celui d'une enzyme michaélienne.

– Par analogie avec la courbe $v_i = f([S])$, schématiser l'allure de la courbe représentative des variations de la vitesse de diffusion membranaire du glucose en fonction de la glycémie et y situer K_M et V_{max}.

– Lequel des deux transporteurs GluT2 et GluT4 a la plus grande affinité pour le glucose ? Justifier la réponse.

– En utilisant l'équation de Michaelis, exprimer la vitesse de diffusion du glucose en fonction de la vitesse maximale, dans le cas des cellules musculaires ou adipeuses, d'une part, et dans le cas des cellules hépatiques, à jeun et en phase postprandiale, d'autre part. Comparer et conclure quant au risque de saturation du transporteur dans les trois cas.

1.2.1.2. Dans le cas du muscle et du tissu adipeux, l'insuline stimule l'expression membranaire du transporteur GluT4, par exocytose de vésicules contenant GluT4 dans leur membrane.

– Schématiser ce phénomène d'exocytose.

– En déduire l'action de l'insuline sur la vitesse de diffusion du glucose à travers la membrane des myocytes et des adipocytes.

1.2.2. Phosphorylation du glucose

1.2.2.1. Après son entrée dans la cellule, le glucose y est phosphorylé en glucose-6-phosphate (G6P).

Écrire l'équation chimique de la réaction de phosphorylation du glucose et expliquer le couplage énergétique intervenant à ce niveau (utiliser la représentation cyclique du glucose).

Données :

$\Delta G_0'$ d'hydrolyse d'une liaison phosphoanhydride de l'ATP = – 30 kJ/mol ;

$\Delta G_0'$ d'hydrolyse de la liaison ester phosphate du G6P = – 14 kJ/mol.

1.2.2.2. Cette réaction peut être catalysée par deux enzymes E1 et E2, l'enzyme E2 étant spécifique du foie.

Donner le nom de chacune de ces enzymes E1 et E2.

1.2.2.3. L'insuline stimule la biosynthèse de l'enzyme E2.

Quelle est la conséquence de cette action sur la vitesse de diffusion du glucose à travers la membrane des hépatocytes ?

1.2.3. Devenir du G6P

Parmi ses différentes destinées, le G6P peut être utilisé à la synthèse de glycogène. Les deux enzymes E3 et E4 sont responsables de l'orientation du métabolisme du glycogène dans le sens biosynthèse ou dégradation. Elles sont régulées par un mécanisme de phosphorylation-déphosphorylation. L'enzyme E3 est active sous forme déphosphorylée alors que l'enzyme E4 est active sous forme phosphorylée.

– Donner le nom de chacune des enzymes E3 et E4.

L'insuline stimule les phosphatases qui catalysent la déphosphorylation des enzymes E3 et E4.

– Écrire l'équation de déphosphorylation d'une enzyme (on utilisera les notations simplifiées : « enzyme-OH » pour la forme déphosphorylée et « enzyme-O-P » pour la forme phosphorylée).

– Quelle est l'action de l'insuline sur le métabolisme du glycogène ?

1.2.4. Perturbations métaboliques en l'absence d'insuline

1.2.4.1. Donner le nom de chacun des métabolites M1 et M2 et indiquer, à l'aide des données du document 2 p. 27, et en justifiant les réponses, quelles sont les perturbations des métabolismes glucidique et lipidique qui apparaissent en l'absence d'insuline.

1.2.4.2. Quel est le trouble de l'équilibre acido-basique qui apparaît en l'absence d'insuline ?

2. Diagnostic du diabète

2.1. Détermination de la glycémie

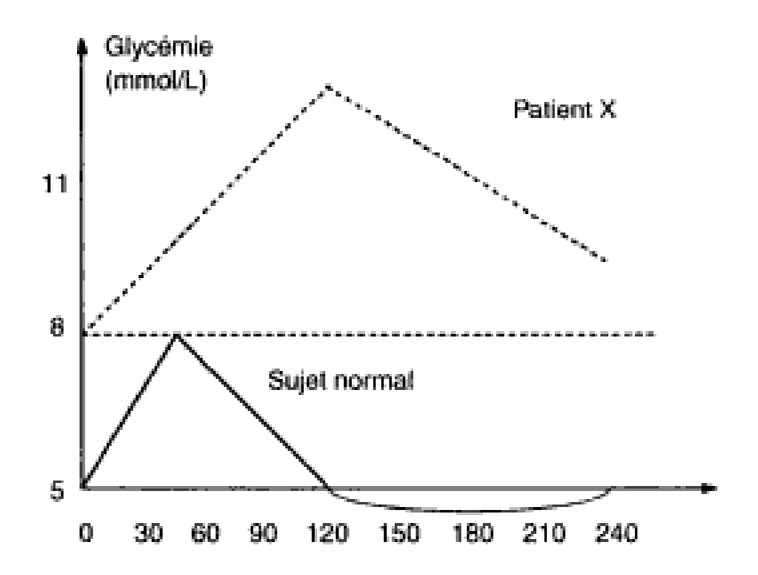
2.1.1. Dans quelles conditions est effectué le prélèvement sanguin en vue de la détermination de la glycémie par la méthode à la glucose oxydase ?

2.1.2. Indiquer succinctement le principe de cette méthode de dosage.

2.2. Épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO)

Le document présente l'allure de la courbe d'HGPO obtenue pour un patient X, et celle d'un sujet normal.

– Comparer ces deux courbes et indiquer quelles sont les différences importantes qui permettent d'affirmer que le patient X est diabétique.



Composition de la solution réactionnelle

	tampon phosphate	150 mmol/L
	phénol	10 mmol/L
	amino-antipyrine	0,4 mmol/L
	peroxydase	⩾ 300 U/L
	glucose oxydase	⩾ 15 000 U/L
Mélanger :	échantillon ou étalon	10 µL
	solution réactionnelle	1 mL

Homogénéiser. Attendre 10 minutes à 37 °C ou 20 minutes à 20-25 °C.

Lire l'absorbance à 505 nm contre un blanc réactif.

Stabilité de la coloration : 30 minutes

Limite de linéarité : 20 mmol/L ou 4 g/L (dans l'échantillon)

Valeurs de référence : 4,1 à 6,1 mmol/L ou 0,7 à 1,1 g/L

3. Surveillance biologique du traitement à l'insuline

Chez le sujet diabétique, le glucose se fixe, par une réaction non enzymatique, sur les groupements NH_2 des protéines. Le dosage de l'hémoglobine A1 glyquée permet de suivre l'équilibre glycémique de l'individu diabétique.

3.1. Quelle est la structure de l'hémoglobine A1 ?

3.2. L'hémoglobine, molécule transporteuse du dioxygène

3.2.1. Où se fixe le dioxygène ? Quelles modifications de la structure quaternaire cette fixation induit-elle et quelles en sont les conséquences ?

3.2.2. Quels sont les principaux facteurs qui diminuent l'affinité de l'hémoglobine pour le dioxygène ? À quel niveau de l'organisme interviennent-ils ?

3.3. Comment varie la concentration en hémoglobine glyquée chez le diabétique dont le traitement est mal équilibré ? Quel est l'intérêt de ce dosage par rapport à celui de la glycémie ?

3.4. Électrophorèse de l'hémoglobine

3.4.1. L'hémoglobine glyquée peut être dosée par électrophorèse en gel d'agarose.

– Sur quelle fraction sanguine se réalise ce dosage ?
– Donner le principe de cette méthode de séparation et préciser comment migre l'hémoglobine glyquée par rapport à l'hémoglobine non glyquée.
– Comment s'effectue la lecture du gel après migration et comment exprime-t-on le résultat de cette analyse ?

3.4.2. L'électrophorèse de l'hémoglobine est aussi utilisée pour le diagnostic de certaines anémies. Lesquelles ? Donner un exemple de résultat.

4. Diabète et auto-immunité

Un sujet prédisposé à un diabète insulinodépendant (DID) présente des auto-anticorps anti cellules β des îlots de Langerhans du pancréas.

4.1. En tenant compte de la présence de ces auto-anticorps, comment peut-on expliquer le DID ?

4.2. Le risque génétique de ce diabète est lié à certains groupes du CMH II (complexe majeur d'histocompatibilité d'expression restreinte).

4.2.1. Sur quelles cellules existent les antigènes du CMH II ?

4.2.2. Quelle est la structure de ces antigènes ?

4.2.3. Indiquer le principe de leur détermination à partir des lymphocytes du sujet par la méthode de microcytotoxicité.

4.3. La présence d'auto-anticorps anti cellules β du pancréas est détectée par réaction d'immunofluorescence indirecte sur coupes de pancréas humain. Quelles sont les étapes de cette technique ?

4.4. Le caractère auto-immun de cette maladie a également été démontré par expérimentation animale. Il apparaît chez ces animaux des lymphocytes T cytotoxiques anti cellules β de Langerhans. Cela prouve une rupture de la tolérance immunitaire.

4.4.1. Présenter une hypothèse qui puisse expliquer la tolérance immunitaire et son caractère spécifique.

4.4.2. Certains diabètes sont expliqués, au niveau des mécanismes physio-pathogéniques, par une réaction à médiation cellulaire dirigée contre les cellules β. Décrire les étapes de la réaction immunitaire aboutissant à la lyse des cellules β.

5. Diabète et infections opportunistes

La déficience immunitaire qui accompagne le diabète est favorable à la survenue d'infections microbiennes à micro-organismes opportunistes.

5.1. Diabète et infections bactériennes

Parmi les bactéries anaérobies responsables d'infections opportunistes, se trouve *Bacteroides fragilis.*

5.1.1.

– À quel groupe d'anaérobies appartient le genre *Bacteroides* ?

– Quels sont les principaux caractères morphologiques de ce genre ?

5.1.2. *Bacteroides fragilis* est caractérisé par une capsule, une endotoxine, la possibilité de produire de nombreuses enzymes.

– Expliquer le rôle de ces différents facteurs dans l'expression d'un pouvoir pathogène.

5.1.3. La flore commensale intestinale est très majoritairement constituée de bactéries anaérobies parmi lesquelles *Bacteroides fragilis* domine.

– Donner brièvement les conditions d'isolement de cette bactérie dans les selles : température, durée d'incubation, atmosphère, milieu(x).

5.1.4. *Bacteroides fragilis* possède une β-lactamase d'origine chromosomique, non inductible. L'action des aminopénicillines est récupérée en présence d'un inhibiteur de β-lactamase.

– Donner la définition et le mode d'action d'une β-lactamase.

– Quel est le site d'action des β-lactamines ?

– Que signifie β-lactamase d'origine chromosomique, non inductible ?

– Citer un inhibiteur de β-lactamase.

5.1.5. En outre, de nombreuses souches de *Bacteroides fragiles* sont résistantes aux tétracyclines et à l'érythromycine. Cette résistance est liée à la présence de transposons dans la bactérie.

– Qu'est-ce qu'un transposon ? Quelle différence existe-t-il entre un transposon et un plasmide ?

5.2. Diabète et infections mycosiques

Candida albicans est un hôte normal de la flore du tube digestif et des voies génito-urinaires de l'homme. Il peut devenir pathogène lors d'un déséquilibre au sein d'une flore commensale.

5.2.1. Citer trois facteurs favorisant l'installation d'une mycose chez un sujet.

5.2.2. Sous forme d'un schéma, présenter :
- les différentes étapes conduisant au diagnostic d'une infection à *Candida albicans*;
- les méthodologies utilisées et les résultats attendus.

BIOLOGIE HUMAINE 1999 : LE MYÉLOME MULTIPLE OU MALADIE DE KAHLER

(corrigé pp. 74-80)

Un homme de 70 ans consulte pour des douleurs osseuses et articulaires.

Les douleurs ont conduit le médecin à demander dans un premier temps l'exploration de la pathologie osseuse par un dosage de phosphatase alcaline sérique et une première exploration hématologique.

1. Exploration de la pathologie osseuse

1.1. Quels sont les facteurs vitaminique et hormonaux qui interviennent dans le métabolisme des phosphates et du calcium ? Quelle est leur action sur le métabolisme de ces deux ions ?

1.2. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL) selon le protocole de l'annexe 1.

1.2.1. Ce dosage s'effectue en déterminant la concentration d'activité catalytique de l'enzyme.
- Définir l'activité catalytique d'une enzyme.
- Justifier, pour une telle détermination, l'intérêt d'opérer en milieu tamponné et dans un bain thermostaté.

1.2.2. Le substrat utilisé est le nitro-4-phénylphosphate à la concentration de 16 $mmol.L^{-1}$. Justifier l'intérêt d'utiliser un tel substrat et la nécessité de fixer sa concentration à cette valeur.

Donnée K_m de la PAL = 1,5 $mmol.L^{-1}$.

1.2.3. Justifier la remarque concernant la linéarité : nécessité de diluer l'échantillon pour une variation moyenne d'absorbance supérieure à 0,25/minute.

2. Exploration hématologique

2.1. Exploiter les résultats de l'hémogramme donné en annexe 2.

2.2. La vitesse de sédimentation (VS) est de 115 mm à la première heure. Présenter le principe de ce test ; justifier l'augmentation de la VS.

Quel résultat de l'hémogramme (annexe 2) est en relation avec l'augmentation de la VS ?

Les résultats de ce premier bilan montrant un métabolisme phosphocalcique normal et une vitesse de sédimentation très élevée conduisent à poursuivre les investigations par l'étude de l'urine, des protéines sériques et de la moelle osseuse.

3. Examen chimique et cytobactériologique de l'urine (ECBU)

3.1. L'urine est élaborée dans le rein par environ un million d'unités fonctionnelles appelées néphrons.

Préciser les étapes de l'élaboration de l'urine par le néphron et donner brièvement les caractéristiques de chacune d'elles.

3.2. Comment doit-on prélever les urines dans le cadre d'un ECBU ?

3.3. Les résultats obtenus sont donnés dans l'annexe 3.

- Peut-on conclure à une infection urinaire ? Justifier la réponse.
- Que représentent les cylindres hyalins observés lors de l'examen cytologique et quelle est leur signification ?

4. Étude des protéines

4.1. Dans tout sérum normal on retrouve des immunoglobulines qui possèdent toutes la même structure de base.

4.1.1. Citer les cinq classes d'immunoglobulines.

4.1.2. Faire un schéma détaillé de cette structure de base.

Pour chaque classe, préciser la nature de leurs chaînes lourdes et légères.

4.1.3. Expliquer à partir du schéma produit en 4.1.2, comment une même structure de base peut correspondre à des anticorps de spécificités différentes.

Pour un organisme donné, au cours d'une immunisation, on observe successivement la synthèse de deux classes différentes d'immunoglobulines : on parle de commutation isotypique.

- Quelles sont, dans l'ordre d'apparition, ces deux classes d'immunoglobulines ?
- Qu'appelle-t-on isotype ?

4.2. Le dosage des protéines sériques du malade a donné un résultat de 110 $g.L^{-1}$. Ce résultat élevé a conduit le laboratoire à réaliser une électrophorèse de zone sur polyacétate de cellulose en tampon tris barbital pH 8,8.

4.2.1. Le résultat de cette électrophorèse et son analyse par densitométrie sont présentés dans l'annexe 4, figure A.

Quelle est l'anomalie apparente sur ce tracé ?

4.2.2. Pour compléter cette analyse, on réalise une immuno-électrophorèse sur le sérum du malade.

Les résultats sont présentés en annexe 4, figure B.

– Donner le principe de l'immuno-électrophorèse.

– Analyser et interpréter les résultats. Les relier à la pathologie étudiée.

5. Exploration médullaire

Une ponction médullaire est réalisée chez le malade. Le résultat du myélogramme est donné en annexe 3.

5.1. Définir ponction et biopsie médullaires. Quels types d'études permettent-elles d'effectuer ?

5.2. Présenter les principales étapes de l'observation microscopique d'un frottis médullaire coloré par la méthode de May-Grünwald Giemsa en vue de l'établissement du myélogramme.

5.3. Schématiser l'aspect d'un plasmocyte normal sur frottis fixé et coloré par la méthode de May-Grünwald Giemsa.

Présenter les relations entre aspect cytologique, ultrastructure et fonction du plasmocyte.

5.4. De quelle cellule le plasmocyte est-il issu ?

5.5. Les plasmocytes observés sont dystrophiques (atypiques). Indiquer les principales dystrophies des plasmocytes.

5.6. Le bilan des investigations permet de conclure à un myélome multiple.

5.6.1. Quel est le résultat du myélogramme qui oriente vers un myélome multiple ?

5.6.2. Définir cette pathologie.

5.6.3. Quelles sont les conséquences de la dysglobulinémie sur l'hémogramme ?

6. Infections respiratoires

Les personnes atteintes de myélome sont sujettes à diverses infections, en particulier des infections respiratoires.

6.1. L'arbre respiratoire présente des moyens de défense non spécifiques s'opposant à l'implantation des micro-organismes.

Les présenter en fonction de leur localisation et expliquer le rôle de chacun.

6.2. Les bactéries responsables d'infections respiratoires sont recherchées dans les prélèvements trachéobronchiques.

Indiquer et justifier les examens pratiqués le premier jour de l'analyse cytobactériologique du produit d'une expectoration spontanée, en décrire sommairement le protocole.

6.3. *Streptococcus pneumoniae* est fréquemment rencontré comme agent d'infections chez les sujets atteints de myélome.

Décrire les colonies suspectes pouvant être observées sur les milieux d'isolement et présenter la conduite de l'identification rapide de cette bactérie.

6.4. De nombreuses souches de pneumocoques présentent une sensibilité diminuée à la pénicilline G.

Comment est-elle recherchée *in vitro* ?

6.5. Certaines infections respiratoires peuvent être dues à des adénovirus. Ce sont des virus à ADN, nus, à symétrie cubique et à pouvoir hémagglutinant.

– Donner la définition d'un virus. Quels sont les critères de classification des virus ?

– Proposer un schéma simple et légendé d'un adénovirus.

6.6. Les adénovirus humains se multiplient essentiellement sur cellules humaines de type épithélioïde.

Présenter les principales étapes de l'entretien d'une lignée cellulaire.

Annexe 1

Enzyline® PAL standardisé

Détermination cinétique de l'activité phosphatase alcaline (SFBC/SSCC-SGKC/NVKC

Réf. 6 365 9
Coffret pour 2 × 30 à 2 × 120 déterminations
R1 – 4 × 85 mL
R2 – 3 × 5 mL (poudre)

Méthode recommandée par la SFBC
À l'exception de la température, les mêmes conditions de réactions sont recommandées par la société de Chimie Clinique Suisse (SSCC- SGKC) et Hollandaise (NVKC)

PRINCIPE
Détermination cinétique de l'activité phosphatase alcaline selon la réaction :

Nitro-4 phénylphosphate $\xrightarrow{PAL}$ Nitro-4 phénol + phosphate

La réaction est effectuée en tampon amino-2 méthyl-2 propanol-1, pH 10,5
PAL : phosphatase alcaline

Valeurs usuelles dans le sérum à 30 °C (SFBC)

Enfants	
0 - 2 mois	1 600 – 3 800 nkat.L^{-1}
2 - 6 mois	1 300 – 4 600 nkat.L^{-1}
6 mois - 3 ans	1 600 – 3 800 nkat.L^{-1}
3 - 15 ans	1 500 – 5 000 nkat.L^{-1}
Femmes	
15 - 40 ans	500 – 1 500 nkat.L^{-1}
au dessus de 40 ans	500 – 1 700 nkat.L^{-1}
Hommes	
au dessus de 15 ans	500 – 1 500 nkat.L^{-1}

Valeurs usuelles dans le sérum à 37 °C (SSCC-SGKC/NVKC) : utiliser le facteur de conversion 1,23 (ref.4)

Bibliographie

1. Ann. Biol. Clin. 1977, 35,271-273
2. Ann. Biol. Clin. 1982, 40, 111-116
3. ISB 1984, 10 (n° 1), 31-35
4. Société Suisse de Chimie Clinique, Commission scientifique. Bulletin SSCC- SGKC. Suppl. au vol. 25/3-VIII, 1982

RÉACTIFS
Concentration dans le test

Réactif 1 tampon magnésium **Réactif 2**	tampon amino-2 méthyl-2 propanol-1, pH 10,5 0,9 mmol/L sulfate de magnésium 1 mmol/L Nitro-4 phénylphosphate 16 mmol/L

Stabilité :
La stabilité des réactifs à 2-8 °C est indiquée sur chaque conditionnement.

ÉCHANTILLONS
Sérum ou plasma recueilli sur héparine.
Hémolyse gênante.

MODE OPÉRATOIRE

Préparation du réactif :
Reprendre un flacon de Réactif 2 par 5 mL d'eau distillée.
Stabilité :
– 1 semaine à 20-25 °C
– 1 mois à 2-8 °C

Longueur d'onde → 405 nm
Température → 30 °C
Cuve → trajet optique 1 cm
Zéro de l'appareil → air ou eau distillée

Introduire dans un tube ou une cuve de mesure thermostatés à 30 °C :

Tampon magnésium (R1)	2,8 mL	1,4 mL	700 µL
Echantillon	100 µL	50 µL	25 µL
Mélanger			
Substrat (R2)	100 µL	50 µL	25 µL

Mélanger. Mesurer l'augmentation moyenne d'absorbance par min (n) pendant 1 à 3 minutes.

Linéarité :
Pour une variation moyenne d'absorbance par min ≥ 0,25, refaire la détermination en diluant l'échantillon au 1/5 ou 1/10 dans une solution de NaCl 9 g/L.

Calcul :

405 nm ⟶ U/L = n × 1 613
nKat/L = n × 26 890

410 nm ⟶ U/L = n × 1 715
nKat/L = n × 28 580

NOTE
Adaptations sur appareils automatiques disponibles sur demande.

CONTRÔLE DE QUALITÉ : Zymotrol

Annexe 2

RÉSULTATS DE L'HÉMOGRAMME

Leucocytes	$8{,}80.10^{9}$/L
Érythrocytes	$3{,}82.10^{12}$/L
Hémoglobine	105 g/L
Hématocrite	0,395 L/L
VGM	85,1 fL
TCMH	27,5 pg
CCMH	323 g/L d'érythrocytes
Intradermo réaction	13,7 %
Thrombocytes	290.10^{9}/L

Formule leucocytaire normale

Sur le frottis présence d'érythrocytes en rouleaux

Annexe 3

CHIMIE ET CYTOBACTÉRIOLOGIE URINAIRES

• *Chimie*

pH	5
Glucose	absent
Protéines	+++
Nitrites	absents

• *Cytologie*

– rares leucocytes (moins de 2 par champ) ;
– quelques cellules épithéliales vésicales ;
– assez nombreux cristaux d'oxalate de calcium, nombreux cylindres hyalins, très rares bacilles mobiles ;
– absence d'hématies.

• *Bactériologie*

10^{2} colonies de *E. coli* par mL d'urine.

Annexe 4

Figure A

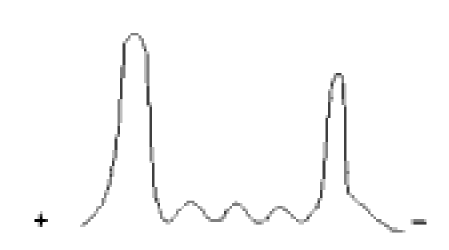
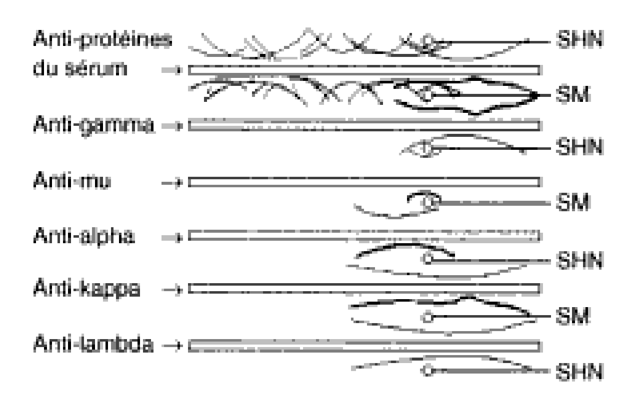


Figure B



SHN = sérum humain normal ; M = sérum du malade

Annexe 5

RÉSULTAT DU MYÉLOGRAMME

La richesse cellulaire est normale.

Les mégacaryocytes sont en nombre normal.

Les cellules des lignées granuleuses représentent 35 %. Elles ont un aspect normal et tous les stades sont bien représentés.

Les cellules de la lignée érythroblastique représentent 3 %.

Les lymphocytes représentent 12 % des cellules.

Les plasmocytes (50 %) sont souvent dystrophiques.

BIOLOGIE HUMAINE 2000 : LES ANTICORPS

(corrigé pp. 81-87)

1. Relations structure-fonctions

1.1. Structure

1.1.1. Sur le schéma fourni en annexe 1 :

– compléter les légendes ;

– localiser le(s) site(s) de liaison à l'antigène et la région Fc.

Le schéma est à rendre avec la copie.

1.1.2. Les immunoglobulines sont des glycoprotéines oligomériques.

1.1.2.1. Définir le terme glycoprotéine et rappeler quels sont le ou les organites cellulaires responsables des glycosylations.

1.1.2.2. Présenter succinctement les quatre niveaux d'organisation moléculaire des protéines. Indiquer la nature des différents types de liaisons mises en jeu.

1.1.2.3. Des ponts disulfure interchaînes participent à la stabilisation de la structure quaternaire des immunoglobulines.

À partir de quels résidus d'acides aminés se forment ces liaisons disulfure ?

1.2. Fonctions

Il existe différentes classes d'anticorps circulants qui possèdent des valences et/ou des fonctions effectrices différentes.

La fonction commune à toutes les classes d'anticorps est la reconnaissance d'un antigène, ce qui entraîne la formation d'un immuncomplexe.

1.2.1. Quelle est la particularité remarquable de la structure primaire des régions peptidiques responsables de la spécificité des sites de liaison pour les antigènes ?

1.2.2. Citer les différentes classes d'anticorps. Indiquer :

– leur valence théorique ;

– les fonctions liées au fragment Fc pouvant s'exprimer après formation d'un immuncomplexe.

2. Pathologies liées aux anticorps

Les pathologies auto-immunes peuvent être responsables d'anémie hémolytique. Il s'agit parfois d'hémolyse intravasculaire aiguë d'apparition brutale.

2.1. Aspect hématologique

2.1.1. Qu'est-ce qu'une maladie auto-immune ? Donner un autre exemple de maladie auto-immune.

2.1.2. Quelles sont les caractéristiques des paramètres érythrocytaires de l'hémogramme lors d'une anémie hémolytique ? Justifier la réponse.

2.1.3. Proposer une classification des anémies hémolytiques.

2.2. Aspects biochimiques

On trouve, dans le sang des patients atteints d'anémie hémolytique, des concentrations élevées en iso-enzymes 1 et 2 de la lactate déshydrogénase (LDH1 et LDH2) et de bilirubine non conjuguée.

2.2.1. Justifier l'existence des concentrations plasmatiques supérieures à la normale de la LDH et de la bilirubine non conjuguée.

2.2.2. Préciser le devenir physiologique de la bilirubine non conjuguée. Expliquer l'apparition fréquente d'ictères dans cette pathologie.

2.2.3. La lactate déshydrogénase est une enzyme tétramérique constituée de deux sous-unités, H et M. On trouve dans l'organisme cinq iso-enzymes numérotées de 1 à 5.

2.2.3.1. Définir le terme « iso-enzyme ».

2.2.3.2. Justifier, sur un plan structural, l'existence de ces cinq iso-enzymes.

2.2.3.3. La séparation analytique de ces iso-enzymes peut être réalisée par électrophorèse. On observe alors cinq bandes. Justifier, par des arguments structuraux, les différences de migration des cinq iso-enzymes.

2.2.3.4. Les iso-enzymes LDH 1 et LDH 2 possèdent une spécificité de substrat qui leur permet de catalyser à la fois la transformation réversible du pyruvate en lactate (activité LDH) et la transformation de l'α-cétobutyrate en α-hydroxybutyrate (activité αHBDH). Un coffret de dosage permet de déterminer les deux concentrations d'activité catalytique. La composition des réactifs du coffret est indiquée dans l'annexe 2.

Indiquer le principe de chaque dosage :

– équations ;

– longueurs d'onde utilisées ;

– sens de l'évolution de l'absorbance.

3. Applications thérapeutiques

3.1. Prévention et traitement du tétanos

La vaccination antitétanique se fait par deux injections sous-cutanées d'anatoxine à un mois d'intervalle, un rappel au bout d'un an, puis tous les dix ans. Après une blessure à risque chez un sujet présentant une vaccination incomplète, il faut lui injecter, dans les plus brefs délais, des gammaglobulines antitétaniques.

3.1.1. Donner la définition d'une anatoxine.

3.1.2. Présenter le mécanisme physiopathologique du tétanos.

3.1.3. Expliquer pourquoi les gammaglobulines antitétaniques permettent de limiter l'évolution de la maladie.

Pourquoi est-il urgent de les injecter en cas de blessure à risque ?

3.2. Intérêt de la vaccination *anti-Haemophilus influenzae* sérotype b dans la prévention des méningites chez le jeune enfant

Il existe actuellement un vaccin *anti-Haemophilus influenzae* sérotype b destiné à protéger les enfants des risques de méningite.

3.2.1. *Haemophilus influenzae* est un bacille Gram négatif, le sérotype b est une souche capsulée. Le vaccin a pour objectif de prévenir, par la production d'anticorps, les méningites dues à ce germe.

- Quelle est la nature chimique de cette capsule ?
- Indiquer son rôle dans le pouvoir pathogène de *Haemophilus influenzae* ainsi qu'un autre facteur de virulence produit par cette bactérie. Citer une autre espèce bactérienne capsulée responsable de méningites.

3.2.2. Dans le cas de méningite aiguë à *Haemophilus influenzae,* quel est l'aspect macroscopique du LCR ? Justifier la réponse.

3.2.3. Compte tenu de l'urgence du diagnostic de méningite, une technique permet de dépister en quelques minutes *Haemophilus influenzae* directement à partir du prélèvement. Décrire cette technique et en présenter le principe.

3.2.4. Classiquement, le LCR est ensemencé sur un milieu de culture adapté aux exigences de ces bactéries. Présenter la composition sommaire de ce milieu et ses conditions d'utilisation.

3.2.5. Sur quels critères fondamentaux sont identifiés :

- le genre *Haemophilus ;*
- l'espèce *Haemophilus influenzae* ?

3.2.6. De nombreuses souches de *Haemophilus influenzae* produisent une β-lactamase. Donner le principe d'un test de détection rapide de ces enzymes.

3.3. Vaccination anti-bilharziose

De nombreuses recherches portent actuellement sur la mise au point de vaccins antiparasitaires, en particulier contre les bilharzioses.

3.3.1. À quel genre appartiennent les parasites responsables des bilharzioses ?

3.3.2. Indiquer le mode de contamination et la forme infestante.

3.3.3. Donner les étapes du diagnostic direct de cette parasitose à partir de l'urine.

4. Outil de diagnostic

4.1. Les anticorps monoclonaux et la différenciation cellulaire

Dans de nombreux cas, l'étude de la différenciation cellulaire a bénéficié de l'apport des anticorps monoclonaux. Ils sont dirigés contre des structures antigéniques membranaires ou cytoplasmiques.

4.1.1. Définir le terme « anticorps monoclonal ».

4.1.2. Application à l'étude de l'érythropoïèse.

4.1.2.1. Les antigènes membranaires de la lignée érythroblastique sont donnés en annexe 3. Les anticorps monoclonaux correspondant peuvent être utilisés pour mettre en évidence les antigènes membranaires des BFU E et CFU E.

Présenter le principe et les modalités de l'immunofluorescence directe appliquée à la reconnaissance des BFU E.

4.1.2.2. Citer les critères d'identification, sur frottis coloré au MGG, des autres cellules de la lignée présentées dans le tableau (annexe 3).

4.1.2.3. Représenter schématiquement le pro-érythroblaste.

4.1.3. Étude de la différentiation des cellules endothéliales obtenues en cultures cellulaires.

L'un des critères le plus utilisé pour affirmer la différenciation est la révélation du facteur von Willebrand par immunofluorescence.

4.1.3.1. La culture des cellules endothéliales est réalisée en présence d'un milieu nutritif auquel on ajoute :

– du sérum de veau fœtal ;

– de la glutamine ;

– de la pénicilline ;

– de la streptomycine.

Indiquer l'intérêt de ces différents composés.

4.1.3.2. Après lésions des vaisseaux, l'hémostase primaire débute. Les cellules endothéliales libèrent notamment le facteur von Willebrand. Expliquer le rôle de ce facteur dans l'hémostase primaire et indiquer la conséquence physiologique de sa libération locale.

4.2. Sérodiagnostic de l'infection par le VIH

Le sérodiagnostic de l'infection par le VIH est réalisé en première intention par une détection et un titrage d'anticorps spécifiques par méthode ELISA.

En cas de séropositivité, un test de confirmation est réalisé par une technique d'immuno-empreinte.

4.2.1. Après culture du VIH 1 et purification, il est possible d'extraire les différentes protéines antigéniques. On réalise une séparation des protéines, selon leur masse molaire, par une électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS).

Le SDS confère à toutes les protéines une densité de charge négative identique.

Après migration, ces protéines sont transférées sur une bande de nitrocellulose.

Après séchage, les bandes sont utilisées pour les tests immunologiques.

4.2.1.1. Dans le cas de l'électrophorèse de zone des protéines :

– préciser les facteurs intervenant sur la mobilité électrophorétique ;

– indiquer leur rôle respectif.

4.2.1.2. À l'aide du tableau présenté en annexe 4, justifier le choix d'une électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de SDS.

4.2.2. Un protocole de détection des anticorps sériques anti-VIH 1 par immuno-empreinte est proposé (annexe 5).

4.2.2.1. Exposer le principe de la technique immunologique présentée en annexe 5.

4.2.2.2. Justifier les différents lavages.

4.2.2.3. Justifier l'emploi :

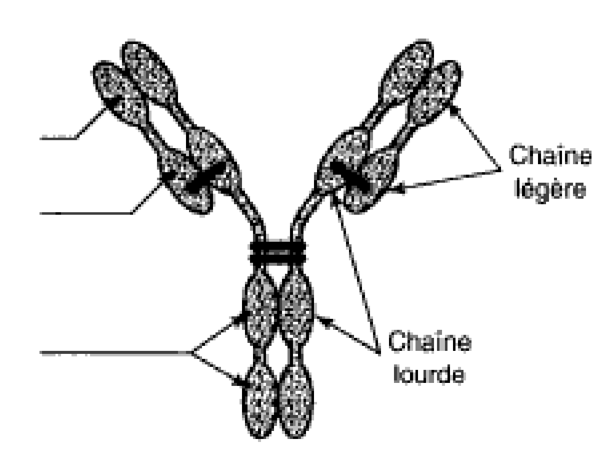
– d'un sérum de contrôle positif ;

– d'un sérum de contrôle négatif.

DOCUMENT-RÉPONSE
(À rendre avec la copie)

Annexe 1

Schéma de la structure de base d'une immunoglobuline IgG



Chaque forme ovale symbolise une chaîne polypeptidique.

Chaque trait symbolise un pont disulfure.

Annexe 2

Composition des réactifs du dosage LDH αHBDH

Réactif 1	Tampon phosphate pH = 7,5 NADH
Réactif 2	Pyruvate
Réactif 3	α-cétobutyrate

Annexe 4

Caractéristiques des supports d'électrophorèse

	Acétate de cellulose	Poly-acrylamide en présence de SDS	Gélose standard (Agar)
Électroendosmose	+	0	+++
Contre-courant d'évaporation	++	faible	++
Tamisage différentiel des protéines	0	+++	faible

Annexe 3

Expression antigénique des cellules de la lignée érythroblastique

	BFU E	CFU E	Pro E	EB	Rét.	Hématie
HLA DR	←	→				
CD 34	←	→				
CD 35	←→					
CD 36		←	—	—	—	→
Acétylcholin-estérase		←	—	—	—	→
Glycophorine A			←	—	—	→
Ag ABH		←	—	—	—	→
Ag Rh		←	—	—	—	→

Pro E : pro-érythroblaste
EB : érythroblaste basophile
Rét. : réticulocyte
BFU E : Burst forming unit-erythroid
CFU E : Colony forming unit-erythroid

Annexe 5

Détection des anticorps anti-VIH 1 par immuno-empreinte

1. Réhydratation des bandelettes.
2. Incubation des échantillons sériques de patients et de sérums de contrôle.
3. Lavage.
4. Incubation en présence d'anti-IgG humains conjugués à la phosphatase alcaline.
5. Lavage.
6. Incubation en présence de 5-bromo, 4-chloro, 3-indolphosphate et de nitro-bleu de tétrazolium.
7. Lavage.
8. Lecture.

BIOLOGIE HUMAINE 1995 : LES ENZYMES AU LABORATOIRE D'ANALYSES MÉDICALES

1. Les enzymes paramètres du diagnostic biologique

1.1. Infections à staphylocoques

1.1.1. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore normale de l'homme. Il peut devenir pathogène lors d'une rupture de l'équilibre hôte-bactérie ou après pénétration dans l'organisme, par effraction de la barrière cutanée. Il se multiplie localement et sécrète des enzymes qui vont favoriser sa dissémination.

L'envahissement local est dû aux hyaluronidases qui détruisent le tissu conjonctif.

La diffusion tissulaire est rendue possible grâce aux lipase, estérase, phosphatase, DNase. Ces enzymes entraînent une nécrose tissulaire.

La coagulase est responsable de caillots qui protègent les bactéries de la phagocytose, ce qui entraîne la formation d'une thrombophlébite locale.

La fibrinolysine dégrade les caillots en microthrombi qui sont disséminés par la circulation sanguine dans l'organisme (embols septiques). Cette dissémination est responsable de métastases septiques.

1.1.2. Plusieurs enzymes sont recherchées pour identifier *Staphylococcus aureus* :

– la catalase permet de préciser la famille du coque à Gram positif, les *Micrococcaceae* sont catalase positifs. La catalase catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène. Le test se réalise sur lame en déposant des bactéries dans une goutte de peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée). L'apparition de bulles indique la présence d'une catalase ;

– la coagulase libre, lorsqu'elle est présente, diagnostique l'espèce *aureus*. L'excrétion de la coagulase est favorisée par la culture du germe dans un milieu liquide riche tel que bouillon pour staphylocoagulase ou bouillon cœur-cervelle, pendant 24 heures. Après culture, l'enzyme est recherchée en mélangeant, à parts égales, du bouillon et du plasma de lapin. Le mélange est incubé à 37 °C. Toutes les 30 minutes, le tube est délicatement incliné pour déceler la présence d'un caillot ;

– la présence d'une thermonucléase est caractéristique de l'espèce *aureus*. Cette DNase se recherche dans une culture de la bactérie en bouillon cœur-cervelle. Après 24 heures d'incubation, une partie du bouillon est portée au bain thermostaté à 100 °C pendant 15 minutes. La DNase de *S. aureus* est thermostable contrairement à d'autres DNases bactériennes. Une goutte du milieu refroidi est déposée dans un puits creusé dans une gélose à l'ADN additionnée de bleu de toluidine. La gélose est incubée 2 heures à 37 °C. La présence de la DNase se traduit par un halo rose autour du puits, le reste de la gélose demeurant bleu.

(D'autres tests sont nécessaires pour poser un diagnostic de genre : type respiratoire, sensibilité à la nitrofurantoïne, affinité pour le fibrinogène, mais seules les enzymes étaient à traiter dans cette question.)

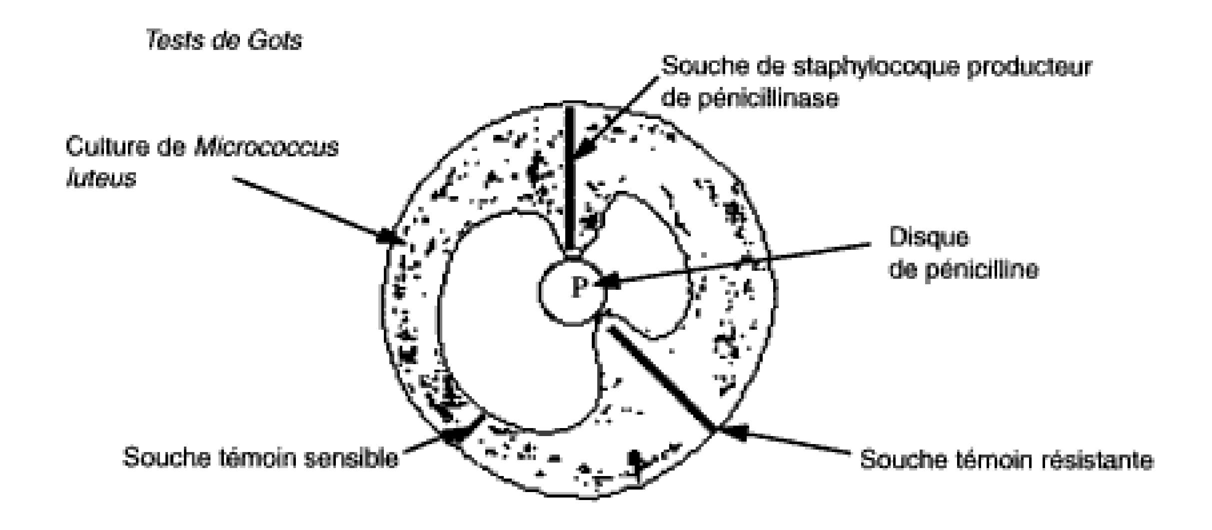
1.1.3. – La β-lactamase des staphylocoques est une protéine inductible, exocellulaire et d'origine plasmidique. Les souches non productrices ne possèdent pas le plasmide portant l'information permettant la synthèse de cette protéine enzymatique.

– Une β-lactamase hydrolyse le cycle β-lactame des β-lactamines, rendant l'antibiotique inactif.

  De nombreuses enzymes existent, certaines sont actives sur les pénicillines (pénicillinases), d'autres sur les céphalosporines (céphalosporinases) et les plus actives sont dites à large spectre (pénicillinases à spectre élargi aux céphalosporines).

– Chez *Staphylococcus aureus*, la β-lactamase peut être suspectée lorsque le halo d'inhibition autour du disque de pénicilline G est à bord net et que des colonies « squatters » sont observées dans la zone d'inhibition. La mesure du diamètre montre une souche intermédiaire à la pénicilline. Dans ce cas, un test à la céphalosporine chromogène, à partir des colonies poussant dans l'environnement du disque (enzyme inductible), est nécessaire. Un disque de papier buvard imbibé d'antibiotique couplé à un chromogène est posé sur une lame et réhydraté. Les bactéries prélevées sur l'antibiogramme sont déposées sur le disque. L'apparition d'une coloration, due à la libération du chromogène, montre la présence de l'enzyme.

Un test de Gots peut être pratiqué, mais il nécessite 24 heures d'incubation. Il consiste à introduire une souche test sensible à la pénicilline dans un milieu Mueller Hinton en surfusion, puis, après refroidissement, à déposer un disque de pénicilline au centre de la boîte. Les souches de staphylocoque à tester sont ensemencées en stries radiées. Après 24 heures d'incubation, la présence de l'enzyme, libérée dans le milieu autour de la strie de culture de staphylocoque, aura permis à la souche sensible de pousser dans l'environnement du disque de pénicilline (voir le schéma ci-dessous).



– *Staphylococcus aureus* peut résister aux β-lactamines par un autre procédé. La bactérie a subi une mutation chromosomique entraînant une modification de la protéine enzymatique servant de cible à l'antibiotique. La mutation peut soit entraîner la synthèse de la même protéine, mais à affinité réduite pour l'antibiotique, soit diminuer la synthèse de la protéine cible au profit d'une autre sans affinité pour l'antibiotique. Cette mutation rend la bactérie résistante à toutes les β-lactamines, même à celles qui étaient insensibles aux β-lactamases (oxacilline, méthicilline).

1.2. Pancréatite aiguë

1.2.1. Lipase et α-amylase pancréatiques.

– Les cellules pancréatiques exocrines sont responsables de la synthèse de l'α-amylase et de la lipase. L'intestin est le lieu d'action de ces deux enzymes du suc pancréatique.

– Réaction catalysée par l'α-amylase :

$$\text{Amylose} + H_2O \xrightarrow{\alpha\text{-amylase}} \text{n maltose} + \text{dextrines}$$

– Réaction catalysée par la lipase :

$$\text{Triglycéride} + H_2O \xrightarrow{lipase} \text{diglycéride} + R'COOH$$

$$\text{Diglycéride} + H_2O \xrightarrow{lipase} \text{monoglycéride} + R''COOH$$

– La bile, par les sels biliaires qu'elle contient, a une action émulsionnante sur les lipides (formation de micelles). De plus, les sels biliaires permettent la fixation de la colipase activatrice sur la lipase. La lipase hydrosoluble (ancrée à l'interface eau/lipides des micelles par la colipase) hydrolyse les triglycérides.

– La cytolyse du pancréas exocrine entraîne la libération des enzymes dans le milieu interstitiel. Ces enzymes passent ensuite dans la lymphe puis dans le sang où leurs concentrations vont augmenter.

1.2.2. Détermination de l'α-amylasémie.

1.2.2.1. Les formes multiples d'enzymes catalysent la même réaction. Les différences sont structurales et dues à un codage génétique différent ou à des modifications post-traductionnelles.

Les iso-enzymes sont un cas particulier de formes multiples d'enzymes. Elles sont formées de l'association de monomères codés par des gènes différents, donc de structure primaire différente.

1.2.2.2. La filtration glomérulaire dépend de la taille de la molécule. L'α-amylase passe le filtre glomérulaire et elle n'est pas réabsorbée puisqu'elle est retrouvée dans l'urine définitive.

Puisque l'α-amylase passe avec une taille supérieure à celle de la lipase, l'hypothèse la plus vraisemblable est que cette dernière est aussi filtrée au

niveau des glomérules, mais qu'elle est fortement réabsorbée au niveau des tubules rénaux.

1.2.2.3. L'intérêt de la méthode immunologique est un dosage spécifique de l'iso-enzyme P.

1.2.3. Détermination de la lipasémie.

La lipoprotéine lipase est accrochée à la paroi des vaisseaux sanguins (endothélium capillaire) (muscles squelettiques, tissu adipeux). Elle hydrolyse les triglycérides contenus dans les chylomicrons et dans les VLDL.

1.2.4. Résultats.

Le temps d'apparition du pic d'activité maximale est presque le même pour les différentes enzymes (45-47 heures).

Le temps de retour au taux de base est plus long pour la lipase (137 > 113 heures).

L'augmentation relative de l'activité est semblable pour l'α-amylase P et pour l'α-amylase totale.

L'augmentation relative de l'activité est plus importante pour la lipase totale que pour l'α-amylase totale.

L'augmentation relative de l'activité est encore plus importante (15 ×) pour la lipase P que pour l'α-amylase P. Donc le dosage est beaucoup plus sensible pour la lipase P et a un plus grand pouvoir diagnostique.

1.3. Déficit immunitaire : étude du système du complément

– Le système du complément est un ensemble complexe d'une vingtaine de protéines circulant dans le sérum à l'état inactif et en dehors de toute immunisation. Il est impliqué dans les réactions de défense spécifique et non spécifique de l'organisme.

  Ce système fonctionne par une série de réactions d'activation en cascade, les protéines inactives étant transformées en complexes dotés d'une activité enzymatique. Il faut noter que l'activation se produit sur des supports (membrane cellulaire, fragment Fc des immunoglobulines), les fractions activées du complément étant sensibles aux inhibiteurs, en phase soluble.

– Un déficit immunitaire par anomalie du complément peut être mis en évidence par une exploration de l'activité fonctionnelle du complément (détermination de la CH_{50}) ou par une étude quantitative des fractions du complément (dosage par réaction d'immunoprécipitation).

  La CH_{50} est la quantité de sérum nécessaire pour lyser, dans des conditions définies, 50 % des globules rouges de mouton recouverts d'anticorps : elle explore l'activité hémolytique de la voie classique d'activation du complément.

  La technique de Mancini ou immunodiffusion radiale est utilisée pour doser certaines fractions du complément, par exemple la fraction C4. Des anticorps anti-C4 sont incorporés à un gel coulé en boîte. Le sérum à tester est introduit dans un puits creusé dans le gel. Après incubation, on obtient un cercle de précipitation, autour du puits, dont le carré du diamètre est proportionnel à la concentration en fraction C4 du sérum.

2. Les enzymes, outils technologiques

2.1. Dosage enzymatique d'un substrat : le cholestérol

2.1.1. Le facteur limitant sera le substrat lui-même pour la première réaction. Et pour la seconde réaction, ce sera H_2O_2 résultant directement de l'oxydation du cholestérol.

Les constituants du chromogène doivent être en concentration suffisante pour ne pas être limitants dans la réaction catalysée par la peroxydase.

Le dosage est effectué dans un temps relativement court, ce qui justifie que les concentrations d'activité catalytique soient importantes.

2.1.2. La peroxydase.

2.1.2.1. – Le paramètre d'une cinétique michaélienne qui permet d'estimer l'affinité est la constante de Michaelis (K_M).

Pour déterminer cette constante, il faut mesurer Vi pour différentes concentrations en substrat, puis tracer la courbe de Lineweaver-Burk : $\frac{1}{Vi} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$.

L'abcisse à l'origine est alors $-\frac{1}{K_M}$.

– Le résultat serait modifié par défaut car H_2O_2 est en partie réduit par l'acide ascorbique.

2.1.2.2. Réaction catalysée.

$$H_2O_2 \xrightarrow{catalase} H_2O + 1/2\ O_2$$

Le résultat serait modifié par défaut car une partie de H_2O_2 formée par la réaction principale sert de substrat à la catalase.

2.2. Dosage d'un médicament

2.2.1. L'antithrombine III se combine à l'héparine (l'antithrombine III est le cofacteur de l'héparine). Le complexe AT III–héparine inhibe le facteur Xa. L'activité résiduelle Xa est mesurée en dosant le produit d'hydrolyse du chromogène. Cette réaction d'hydrolyse est arrêtée après un temps d'incubation précis par addition d'acide acétique.

L'enzyme est le facteur Xa.

L'inhibiteur est le complexe AT III–héparine.

Le substrat est le chromogène.

2.2.2. Pendant le temps t1, le plasma dilué est amené à 37 °C.

Pendant le temps t2, le complexe AT III–héparine se combine avec le facteur Xa et l'inhibe.

Le temps t3 est la durée de la réaction enzymatique.

Le temps t1, préincubation à 37 °C, est approximatif.

Le temps t2 doit être rigoureusement respecté pour la standardisation de la méthode (temps d'inhibition).

Le temps t3 doit lui aussi être respecté puisque c'est la durée de la réaction enzymatique.

2.2.3. Pour réaliser le témoin, il ne faut pas que la réaction colorée se développe, on met donc l'acide acétique (réactif d'arrêt) en premier.

2.2.4. L'héparine est un anticoagulant à effet immédiat, elle est donc utilisée en premier en cas de thrombose ou en cas de risque de thrombose. Les antivitamines K (AVK) prennent ensuite le relais de l'héparine.

Avant toute héparinothérapie il faut faire un bilan de l'hémostase avec obligatoirement :

- une numération de plaquettes (l'héparine peut induire une thrombopénie) ;
- un dosage de l'AT III (c'est le complexe AT III–héparine qui est l'inhibiteur).

Au cours du traitement, il faut :

- effectuer des numérations de plaquettes pour déceler une éventuelle thrombopénie ;
- évaluer l'activité anticoagulante de l'héparine circulante pour vérifier si l'on se trouve bien dans la zone thérapeutique. Une dose insuffisante d'héparine est inefficace et un surdosage entraîne des risques d'hémorragie. Pour l'héparine standard, on détermine le TCA et l'héparinémie par mesure de l'activité anti-IIa ou anti-Xa du plasma. Pour les héparines à bas poids moléculaire, le TCA peu modifié est sans intérêt, l'héparinémie est déterminée par mesure de l'activité anti-Xa.

2.3. Le sérodiagnostic immuno-enzymatique de la toxoplasmose

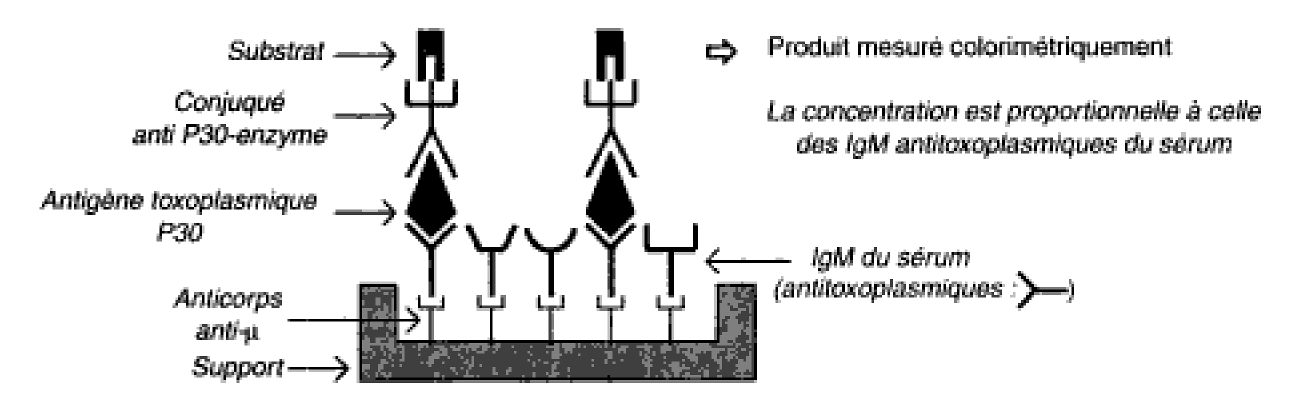
2.3.1. La présence d'anticorps antitoxoplasmiques de classe IgM permet de diagnostiquer une infection récente.

2.3.2. Dans le conjugué anticorps-enzyme, l'anticorps est le support de la spécificité de la réaction, l'enzyme étant responsable de la sensibilité de la réaction puisqu'il est le révélateur de la formation de l'immun-complexe et l'amplificateur de la réaction.

2.3.3. Les différentes étapes de la réaction ELISA de type immunocapture sont les suivantes :

- fixation des anticorps de classe IgM du sérum à analyser sur les anticorps anti-chaînes μ (fixés sur un support) ;
- lavages pour éliminer ce qui n'est pas fixé de façon spécifique ;
- addition d'antigènes toxoplasmiques (ici P30) qui vont se fixer sur les IgM antitoxoplasmiques « piégées » par les anti-μ ;
- lavages pour éliminer ce qui n'est pas fixé de façon spécifique ;
- addition du conjugué anticorps (anti-P30)–enzyme (phosphatase alcaline) qui va se fixer sur l'antigène toxoplasmique ;
- lavages pour éliminer l'excès de conjugué ;
- addition du substrat de l'enzyme (PNPP) ;

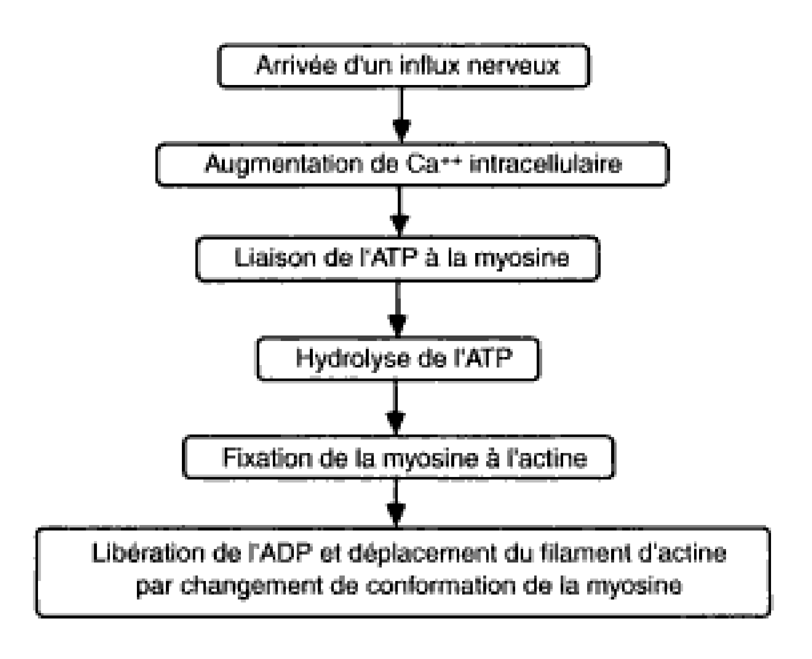
– blocage de la réaction enzymatique par addition de soude ;
– évaluation de l'intensité de la coloration qui est fonction de la concentration en IgM antitoxoplasmiques du sérum.



BIOLOGIE HUMAINE 1996

1. Un mécanisme physiologique intracellulaire : la contraction musculaire

1.1. L'arrivée de l'influx nerveux au niveau de la cellule musculaire entraîne une libération du calcium contenu dans les citernes du réticulum sarcoplasmique dans le sarcoplasme. Ce calcium permet la fixation de l'ATP à la myosine (grâce à des protéines régulatrices). La myosine possède une activité ATPasique, ce qui permet l'hydrolyse de l'ATP et entraîne la fixation de la myosine à l'actine. Le changement de conformation de la myosine permet la libération de l'ADP et le déplacement du filament d'actine par glissement.



1.2. La toxine botulique

1.2.1. En bactériologie, « toxine » désigne des macromolécules, synthétisées par les bactéries, à très fort pouvoir toxique. Une toxine est capable, à des doses très faibles, de tuer un organisme vivant (homme, animal, végétal) ou d'induire des perturbations graves au niveau d'un organe, d'un tissu ou d'une cellule.

On peut classer les toxines d'après :

– leur nature chimique (protéique, lipopolysaccharidique);
– leur localisation dans la bactérie (intracytoplasmique, espace périplasmique, partie intégrante de la paroi, extracellulaire);
– leur tropisme (entérotoxine, neurotoxine, etc.).

Les toxines protéiques sont soit excrétées par la cellule pendant la phase de croissance, soit gardées dans le cytoplasme et libérées lors de la lyse de la bactérie. Elles ont un fort pouvoir immunogène, elles entraînent la synthèse d'anticorps neutralisant l'activité toxique, elles sont transformables en anatoxines non toxiques mais ayant gardé leur pouvoir immunogène. Elles peuvent donc être à l'origine de vaccins. Elles sont thermolabiles. Elles sont très toxiques et agissent de manière spécifique en se fixant sur une cible précise.

Les toxines lipopolysaccharidiques font partie intégrante de la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Elles ne sont donc libérées qu'au moment de la lyse des bactéries. Leur pouvoir immunogène est peu important et les anticorps formés ne sont pas neutralisants, elles ne peuvent être transformées en anatoxine. Elles sont thermostables. Leur pouvoir toxique est moins grand que celui des toxines protéiques, il est le même pour toutes les bactéries à Gram négatif. L'action toxique n'est pas spécifique et s'effectue sur différents organes et cellules.

La toxine botulique est une toxine protéique sécrétée par *Clostridium botulinum* pendant la phase de croissance et libérée dans le milieu lors de la phase de lyse.

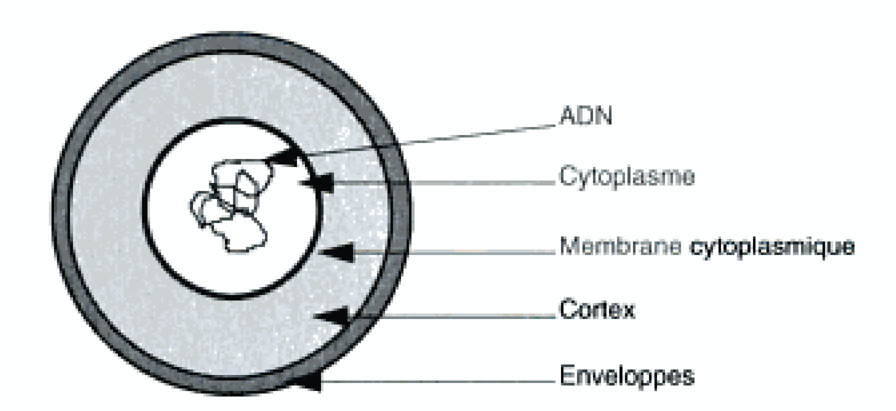
1.2.2. La toxine botulique est une protéine très active (1 mg de toxine A représente 31×10^6 DMM souris). Elle agit surtout sur le système nerveux périphérique, sur les terminaisons nerveuses des fibres nerveuses préganglionnaires parasympathiques, sympathiques et du système nerveux autonome, mais aussi sur les fibres nerveuses parasympathiques et les motoneurones des muscles striés. La toxine inhibe la libération de l'acétylcholine en empêchant l'activation du mécanisme de libération par les ions calcium lors de l'arrivée du potentiel d'action sur l'axone.

1.3

1.3.1. Le culot de centrifugation du broyat d'aliment est chauffé pour éliminer les formes végétatives. *Clostridium botulinum* est une bactérie sporulée, la spore est thermorésistante et sera donc sélectionnée par ce chauffage.

Les éléments structuraux responsables de la thermorésistance sont la forte déshydratation, la présence dans le cortex du dipicolinate de calcium et les enveloppes protectrices.

Schéma d'une spore



1.3.2. Le culot sera mis en culture en atmosphère anaérobie car les *Clostridium* sont des bactéries anaérobies strictes. Ces bactéries sont hypersensibles à l'oxygène, elles ne possèdent pas (sauf de rares exceptions) d'enzymes du système respiratoire (cytochromes, catalase, peroxydase). La présence d'oxygène est responsable de l'apparition de composés toxiques oxydant les protéines, ce qui entraîne la mort de la bactérie. Ces bactéries tirent leur énergie de la fermentation.

1.3.3. La DMM est la dose minimale mortelle. Elle correspond à la plus petite quantité de toxine capable de tuer tous les animaux d'un lot, dans un temps déterminé, les animaux appartenant tous à la même espèce, ayant le même âge et pesant le même poids. Le choix de l'animal et le temps de détermination dépendent de la toxine étudiée.

1.3.4. La réaction utilisée pour rechercher la toxine botulique est une réaction de neutralisation de l'activité toxique de la substance contenue dans l'aliment à analyser.

Le prélèvement contenant la toxine à rechercher et à identifier est mis en présence d'anticorps de spécificité connue, puis inoculé à l'animal.

Si la toxine correspond à l'anticorps, la formation de l'immun-complexe qui en résulte neutralise l'activité de la toxine et l'animal survit. Si la toxine ne correspond pas à l'anticorps, son activité est conservée et l'animal meurt.

1.3.5. La détermination de la dose minimale mortelle (DMM) permet d'ajuster les quantités respectives d'antigène (toxine) et d'anticorps. En effet, en cas d'excès d'antigène, il persistera une fraction de toxine non neutralisée qui sera à l'origine de la mort de l'animal et, donc, d'une mauvaise interprétation du résultat de la réaction.

1.3.6. Dans l'immun-complexe, antigène et anticorps sont liés par des liaisons faibles : liaisons hydrogène, liaisons hydrophobes, liaisons ioniques (ou forces électrostatiques), forces de Van der Waals.

Ces liaisons se créent entre l'épitope de l'antigène et le paratope (ou site anticorps) de l'anticorps.

2. Protéines extracellulaires et diagnostic : érythropoïétine et enzymes plasmatiques

2.1. L'érythropoïétine

2.1.1. Action de l'érythropoïétine.

2.1.1.1. L'érythropoïétine est sécrétée par des cellules rénales situées au niveau de l'appareil juxta-glomérulaire.

Sa production est contrôlée par l'oxygénation tissulaire, une hypoxie stimulant sa synthèse.

2.1.1.2. Une hormone est une substance :

- synthétisée puis sécrétée dans le courant sanguin par des cellules endocrines ;
- transportée à distance du lieu de sécrétion par voie sanguine ;
- pénétrant dans les tissus ;
- induisant, après liaison avec un récepteur protéique spécifique présent chez les cellules cibles, une réponse cellulaire spécifique du type modification de l'expression de certains gènes et/ou modification des performances catalytiques d'enzymes.

L'érythropoïétine sécrétée par des cellules juxta-glomérulaires, transportée par voie sanguine, agit au niveau de la moelle osseuse rouge en stimulant l'érythropoïèse, c'est donc une hormone.

2.1.1.3. La lignée érythroblastique comprend à partir de la cellule souche :

- proérythroblaste ;
- érythroblaste basophile ;
- érythroblaste polychromatophile ;
- érythroblaste acidophile ;
- réticulocyte ;
- hématie.

L'érythropoïétine agit en stimulant :

- la différenciation des cellules souches en proérythroblastes ;
- la synthèse de l'hémoglobine ;
- le passage des réticulocytes de la moelle vers le sang.

2.1.2. Dopage par administration d'érythropoïétine.

2.1.2.1. La production d'hématies étant stimulée par l'érythropoïétine, on trouve au niveau de l'hémogramme un nombre d'hématies, un hématocrite et un taux d'hémoglobine supérieurs à la normale. Les indices érythrocytaires (VGM, TGM, CCMH) restent normaux.

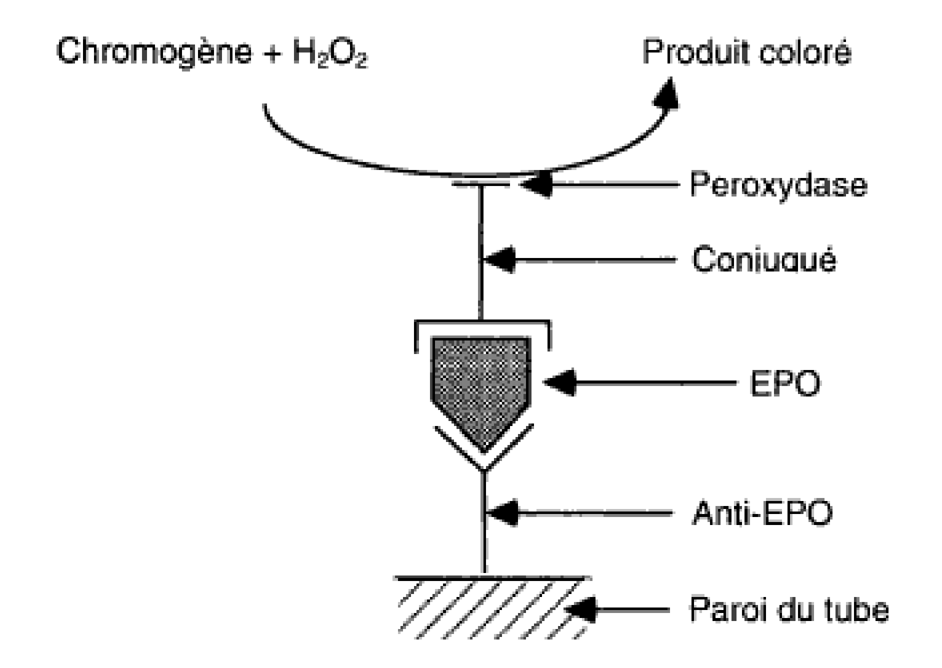
En l'absence de tout renseignement sur le patient, le diagnostic est orienté vers une polyglobulie, ce qui nécessite une mesure de volémie.

Il s'agit d'un dopage car la polyglobulie, provoquée par injection d'érythropoïétine qui entraîne une augmentation du pouvoir oxyphorique du sang, ne répond pas à une hypoxie.

2.1.2.2. Pour obtenir le même effet sans administration de substance chimique, il faut provoquer une hypoxie : il suffit pour cela de suivre un entraînement en altitude (Mexico par exemple située à 2 260 m d'altitude). En redescendant à une altitude proche du niveau de la mer, le pouvoir oxyphorique du sang étant supérieur à la normale, les performances sportives peuvent être améliorées mais ceci n'est que passager.

2.1.2.3. Il s'agit d'une méthode immuno-enzymologique de type sandwich.

Les anticorps monoclonaux anti-EPO sont fixés sur le tube. L'échantillon est ajouté. L'EPO se fixe sur l'anticorps. Après lavage, on ajoute le conjugué constitué d'un autre anticorps monoclonal conjugué à la peroxydase. Le conjugué se fixe sur l'EPO. Il suffit alors de révéler en ajoutant les substrats de la peroxydase.



Il y a dopage si le taux d'EPO est supérieur à 15,2.

2.2. Les enzymes plasmatiques en biologie clinique

2.2.1. Les enzymes plasmatiques sont d'origine tissulaire.

2.2.2. Leur activité est augmentée lors d'une cytolyse ou d'une augmentation de perméabilité cellulaire, ce qui rend leur identification et leur dosage intéressants.

Le dosage permet :

– de préciser l'organe lésé ;

– d'aider au diagnostic ;

– de suivre l'évolution d'une maladie ;

– d'identifier une maladie génétique avec déficit enzymatique.

Aucune enzyme n'est totalement spécifique d'un organe. Il est donc nécessaire d'étudier plusieurs enzymes caractéristiques de l'organe.

2.2.3. La CK-MB apparaît rapidement après une atteinte du myocarde. Elle permet de confirmer le diagnostic de l'infarctus.

La LDH a son activité augmentée plus tardivement. Elle permet de suivre l'évolution de la pathologie.

Il faut noter que la myoglobine peut être dosée rapidement puisqu'elle augmente très rapidement après l'infarctus.

2.2.4. Séparation des iso-enzymes de la LDH par chromatographie d'affinité sur 5'-AMP-sépharose

2.2.4.1. Équation de réaction.

$$\text{Lactate} + NAD^+ \xrightleftharpoons{\textit{lactate déshydrogénase}} \text{pyruvate} + NADH + H^+$$

La lactate déshydrogénase permet de réoxyder le $NADH,H^+$ en NAD^+, autorisant ainsi le fonctionnement de la glycolyse pour fabriquer de l'ATP en anaérobiose.

Elle permet aussi le recyclage des métabolites en glucose (cycle de Cori).

2.2.4.2. Seule l'iso-enzyme LDH1 est spécifique du cœur, d'où l'intérêt de doser les iso-enzymes. Le dosage de la LDH totale (somme des activités des iso-enzymes LDH) ne permettrait pas de confirmer la pathologie.

2.2.4.3. La LDH reconnaît le NADH par sa partie 5'-AMP; le 5'-AMP-sépharose comporte cette partie, ce qui permet la fixation de la LDH.

Il y a compétition entre le NADH et le 5'-AMP pour la fixation des LDH, d'où élution de ces dernières. Les affinités des différentes iso-enzymes étant différentes, l'élution est graduelle.

3. Protéines membranaires et virulence des micro-organismes

3.1.1. Les *Candida albicans* sont des levures opportunistes. Les candidoses sont variées :

– lésions cutanées suintantes des plis (intertrigo);
– atteinte de la base de l'ongle (onyxis);
– vaginites, urétrites;
– candidose buccale (muguet);
– candidoses digestives, tous les étages du tube digestif peuvent être atteints mais le plus souvent il s'agit de l'œsophage, de l'estomac, du rectum et de l'anus;
– pneumopathie sur terrain déficient;
– septicémies, endocardites, méningites.

Des levures sont parfois retrouvées dans les urines, mais *C. tropicalis* semble le plus souvent responsable des infections urinaires.

3.1.2. L'observation microscopique directe du prélèvement (prélèvement vaginal, lavage broncho-alvéolaire, LCR) montre des levures bourgeonnantes. Dans certains cas, l'examen direct n'est pas possible.

Les prélèvements sont ensemencés sur milieu Sabouraud simple ou additionnés de chloramphénicol s'il existe une flore associée (prélèvement vaginal). Un milieu sélectif peut être utilisé permettant l'identification de *C. albicans* comme albicans ID. Ce milieu contient un substrat chromogène mettant en évidence une hexosaminidase caractéristique de cette levure.

Les milieux sont incubés à 30 °C ou 37 °C selon l'origine du prélèvement, pendant 24 à 48 heures.

À partir des colonies obtenues on effectue un test de blastèse : *C. albicans* forme des tubes germinatifs en 3 heures.

En cas de résultat négatif, la formation de chlamydospores, la résistance à l'actidione, sont recherchés et un auxanogramme est effectué.

3.2. Virus Epstein Barr (EBV) et lymphocytes B

3.2.1. La moelle osseuse est le lieu de formation et de maturation des lymphocytes B.

3.2.2. Les lymphocytes B matures ont différents marqueurs, parmi lesquels :

– les immunoglobulines de membrane (mIg);

– les marqueurs CD19, CD20, CD22.

3.2.3. Activation et immortalisation du virus d'Epstein-Barr.

3.2.3.1. La réaction immunitaire des lymphocytes B vis-à-vis d'un antigène thymodépendant met en jeu de nombreuses interactions cellulaires et fait intervenir divers médiateurs chimiques.

Interaction CPA – LT CD4+, interleukine 1 : la cellule présentant l'antigène ou CPA (macrophage, par exemple) présente l'antigène au lymphocyte T CD4+. Le contact, d'une part, entre l'antigène HLA de classe II de la CPA et le CD4 du lymphocyte et, d'autre part, entre l'antigène présenté par la CPA et le récepteur spécifique à l'antigène du lymphocyte T (TCR) induit l'activation du lymphocyte T CD4+. L'interleukine 1 produite par le macrophage provoque également l'activation du lymphocyte T CD4+.

Interaction LT CD4+ – LB, interleukine 2 : le lymphocyte T CD4+ activé synthétise et sécrète l'interleukine 2 (Il2) qui, en dehors d'un effet autocrine sur ces mêmes lymphocytes T CD4+, induit la prolifération et la différenciation des lymphocytes B.

Parallèlement, les lymphocytes B ont reconnu spécifiquement l'antigène, par l'intermédiaire des immunoglobulines membranaires qu'ils possèdent.

Devenir des lymphocytes B : les lymphocytes B activés (par l'antigène et l'interleukine 2) prolifèrent et se différencient en lymphocytes B mémoire et en plasmocytes producteurs d'anticorps spécifiques de l'antigène inducteur.

3.2.3.2. Le virus d'Epstein-Barr induit une activation polyclonale des lymphocytes B. En effet, les lymphocytes B ayant un récepteur pour ce virus, la molécule CD21, la fixation de l'EBV sur son récepteur induit une activation

et une prolifération de plusieurs clones de lymphocytes B. Ces clones ne sont pas issus d'une activation par un antigène spécifique.

BIOLOGIE HUMAINE 1997 : À PROPOS DES STREPTOCOQUES

1. Étude systématique et structurale des *Streptococcaceae*

1.1. Les *Streptococcaceae* sont des cocci à Gram positif, d'aspect et de mode de groupement variables selon les genres et les sérotypes : sphériques ou ovoïdes, groupés par deux ou en chaîne plus ou moins longue. Ils cultivent en aérobiose, mais ils sont anaérobies aérotolérants et donnent donc une meilleure culture en anaérobiose. Ils n'ont pas de catalase, sont oxydase négatifs et fermentent les glucides.

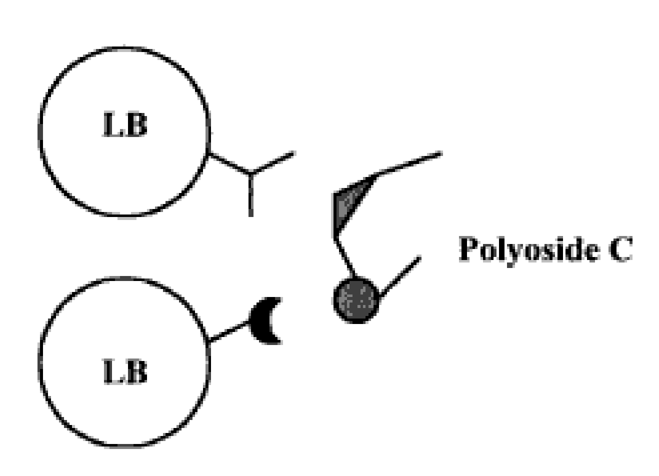
1.2. Les principaux genres de la famille des *Streptococcaceae* sont : *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Aerococcus* et *Enterococcus*.

1.3. Le polyoside C constitue le déterminant antigénique des streptocoques groupables.

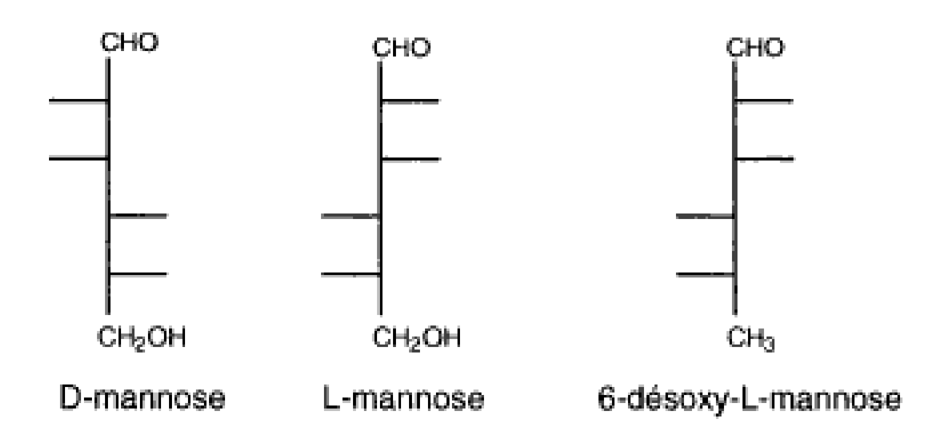
1.3.1. Le polyoside C entre dans la composition de la paroi des streptocoques groupables, à la surface du peptidoglycane, en association avec des protéines qui correspondent à des antigènes de types.

1.3.2. Le polyoside C du streptocoque A est une substance de poids moléculaire élevé, présentant des structures répétitives. Pour ces raisons, il s'agit d'un antigène thymo-indépendant, qui sera reconnu par les lymphocytes B. Le mécanisme de reconnaissance implique les épitopes du polyoside C et les paratopes des immunoglobulines de surface qui constituent le récepteur à l'antigène des lymphocytes B.

Schématiquement :



1.3.3. Structure chimique linéaire du L-mannose et du L-rhamnose.



1.4. Acide hyaluronique : N-acétyl-D-glucosamine β-1,4 D-acide glucuronique β-1,3 N-acétyl-D-glucosamine β-1,4 D-acide glucuronique.

2. Métabolisme des *Streptococcaceae*

2.1. Le milieu CTA est conditionné en tube. Il s'agit d'un milieu faiblement gélosé (gélose molle), qu'il faudra liquéfier à 100 °C, puis laisser refroidir vers 50 °C pour y ajouter une solution de glucose stérile de manière à obtenir une concentration finale de 1 %. Le milieu sera, aussitôt après homogénéisation, placé dans de l'eau froide pour le solidifier. L'ensemencement s'effectue par piqûre centrale.

Après 24 heures d'incubation, le streptocoque aura dégradé le glucose par fermentation homolactique, ce qui produit de l'acide lactique sans production de gaz. Le milieu possède un indicateur de pH, le rouge de phénol, il passera donc du rouge au jaune.

2.2. On donne les potentiels standard d'oxydoréduction des deux couples suivants :

NAD^+ / NADH	$E'_0 = -0{,}32$ V
pyruvate / lactate	$E'_0 = -0{,}19$ V

$NADH + H^+ \longleftrightarrow NAD^+ + 2\ H^+ + 2\ e^-$ $\quad \Delta E'_0 = -0{,}32$ V

$CH_3CHOCOOH \longleftrightarrow CH_3\text{–}CO\text{–}COOH + 2\ H^+ + 2\ e^-$ $\quad \Delta E'_0 = -0{,}19$ V

Le transfert d'électrons s'effectue dans le sens des potentiels croissants, par conséquent le NADH est donneur d'électrons et le pyruvate accepteur.

Variation d'enthalpie libre standard de la réaction :

$\Delta G'_0 = -\ n\ F\ \Delta E'_0 = -\ 2.96\ 500\ .\ [-\ 0{,}19 - (-\ 0{,}32)] = -\ 25\ 090\ J.mol^{-1}$
$= -\ 25\ KJ.mol^{-1}$

L'équilibre de la réaction est en faveur du lactate : la réaction est pratiquement totale dans le sens pyruvate ⟶ lactate.

L'équation s'écrira donc :

$$\text{pyruvate} + NADH + H^+ \longrightarrow \text{lactate} + NAD^+$$

L'enzyme catalysant la réaction est la lactate déshydrogénase.

2.3. Bilan de la glycolyse

– glucose ⟶ 2 pyruvate

– synthèse de 2 ATP

– production de 2 NADH

Le NADH est réoxydé lors de la transformation de l'acide pyruvique en acide lactique.

Le bilan de la fermentation homolactique devient :

$$\text{glucose} + 2\ ATP + 2\ Pi \longrightarrow 2\ \text{lactates} + 2\ ATP + 2\ H_2O$$

2.4. La pyruvate kinase

2.4.1. Étude structurale de la pyruvate kinase.

La filtration sur gel ou tamisage moléculaire permet la séparation des molécules en fonction de leur masse molaire.

Le séphadex est un gel de dextrane (polymère de glucose réticulé). Il se présente sous forme de billes poreuses. La taille des pores conditionne le fractionnement :

– les molécules de taille supérieure aux pores sont totalement exclues et se répartissent dans le volume extérieur aux billes. Elles sortent les premières;

– les molécules de taille intermédiaire vont pénétrer dans les billes en fonction de leur taille et vont donc être éluées dans l'ordre décroissant de leurs masses molaires;

– les molécules de taille inférieure aux pores des billes pénètrent librement dans toute la colonne, elles sortent les dernières.

Le sodium dodécylsulfate (détergent anionique) rompt toutes les liaisons de type faible (dissociation des sous-unités) et charge toutes les sous-unités négativement (« même densité de charges »).

Le 2-mercapto-éthanol réduit les ponts disulfures.

La pyruvate kinase est vraisemblablement constituée de 4 sous-unités (identiques ou non) ou de 4 chaînes reliées par des ponts disulfures. Il peut être encore envisagé la combinaison des deux hypothèses précédentes.

2.4.2. Étude cinétique.

- La courbe Vi = f[PEP] a une allure sigmoïde qui correspond à un comportement allostérique. La pyruvate kinase est une enzyme allostérique vis-à-vis du PEP.
- La courbe Vi = f[ATP] a aussi une allure sigmoïde mais décroissante, ce qui signifie que l'ATP est un inhibiteur allostérique de la pyruvate kinase.
- La régulation fine du métabolisme est l'intérêt principal de ce phénomène. Pour de faibles concentrations en ATP, l'enzyme sera inhibée très progressivement alors que, pour des concentrations plus élevées, l'inhibition sera massive.

3. Angines streptococciques et complications

3.1

3.1.1. Pour que la bactérie exerce son pouvoir pathogène, il faut qu'elle puisse se fixer au tissu concerné, qu'elle sécrète des substances agressives pour les cellules de ce tissu et qu'elle retarde la phagocytose.

Parmi les éléments responsables de l'adhérence au tissu, on peut citer : les *fimbriae*, la protéine M et les acides lipotéichoïques de la paroi des streptocoques du groupe A, des polymères tels que les dextranes ou les lévanes des streptocoques de la bouche qui leur permettent d'adhérer au tissu cardiaque.

Parmi les enzymes sécrétées par le streptocoque du groupe A, on peut citer : la streptolysine à activité cytolytique, une hyaluronidase qui détruit le tissu conjonctif, une désoxyribonucléase.

La capsule, de taille et de composition variables selon les groupes, permet de retarder la phagocytose.

3.1.2. La gélose Columbia enrichie par 5 % de sang de mouton peut être rendue inhibitrice par l'addition d'acide nalidixique et de colistine ou d'azide de sodium. L'incubation en anaérobiose permet d'obtenir une bonne hémolyse, ce caractère étant indispensable à l'orientation d'identification des streptocoques. Les colonies de streptocoque A sont petites (0,5 mm de diamètre), translucides et entourées d'un halo d'hémolyse complète (β). Celles des streptocoques de la flore commensale oropharyngée sont petites, blanchâtres, incrustées dans la gélose et entourées d'un halo d'hémolyse incomplète verdissante (α).

3.1.3. Les colonies β-hémolytiques peuvent correspondre à des streptocoques A. Pour poursuivre l'identification, un groupage des bactéries de ces colonies est donc nécessaire.

Il existe plusieurs techniques commercialisées. Deux se distinguent, celles qui utilisent une extraction du polyoside C et qui sont donc fondées sur une réaction de précipitation en présence de l'anticorps correspondant, et celles qui utilisent le streptocoque entier et qui donnent une agglutination en présence de l'anticorps correspondant.

L'extraction du polyoside C peut s'effectuer par du chlorure d'hydrogène (Lancefield) ou par l'utilisation d'enzymes associées au lyzozyme. La précipitation s'effectue par une technique en tube capillaire ou par immunoélectrophorèse. Certaines techniques mettent en présence l'extrait pariétal et les anticorps fixés sur des particules (bactéries, latex), ce qui donne une agglutination.

Les techniques d'agglutination sont beaucoup plus souvent utilisées.

Lorsque la bactérie est utilisée en entier, il suffit de la mettre en présence de l'anticorps pour obtenir une agglutination, mais la réaction est plus visible si l'anticorps est fixé sur une particule. Ces techniques utilisant les bactéries entières sont moins spécifiques lorsqu'on les effectue directement sur les colonies, il vaut mieux les pratiquer sur une culture en milieu liquide glucosé tamponné. L'agglutination est réalisée sur lame.

3.2. Principe du titrage des ASLO

– La streptolysine, qui a une activité hémolytique sur les hématies de différentes espèces (le lapin et l'homme par exemple), induit la synthèse d'anticorps (anti-streptolysines) capables de neutraliser cette activité.

Schématiquement :

Premier temps : neutralisation éventuelle de la streptolysine par les anticorps

Sérum à analyser

Absence d'anticorps — Présence d'anticorps

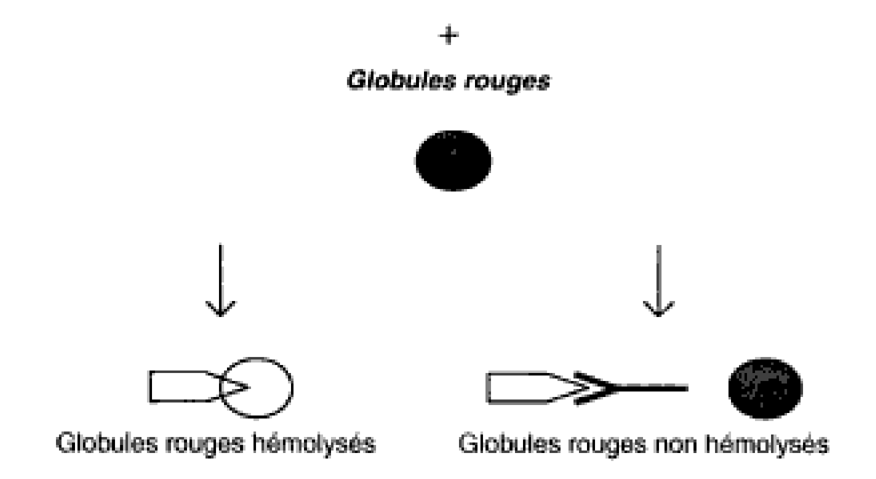
\+

Streptolysine (antigène)

↓ ↓

Streptolysine non neutralysée — Streptolysine neutralysée

Second temps : révélation par ajout des globules rouges



Le titre du sérum correspond à la plus grande dilution ne donnant pas d'hémolyse.

– Résultat : ici, la réaction est positive puisque le titre est supérieur à 200 UI/mL.

3.3. Une bactérie lysogène est une bactérie infectée par un bactériophage tempéré, elle en a intégré le génome. C'est ce génome qui porte l'information de synthèse de la toxine érythrogène. Le streptocoque A qui héberge le phage produira la toxine et sera responsable de la scarlatine. Le streptocoque A qui n'en héberge pas ne produira pas de toxine et sera responsable d'une simple angine.

3.4. Glomérulonéphrite aiguë

3.4.1. – Clairance de la créatinine :

$$C = \frac{U \times V}{P}$$

U = concentration urinaire de la créatinine

P = concentration plasmatique de la créatinine

V = débit urinaire

La clairance de la créatinine révèle le pouvoir d'épuration du plasma par le rein vis-à-vis de la créatinine. Elle est indépendante de la diurèse et mesure directement la filtration glomérulaire, puisqu'elle n'est ni réabsorbée, ni sécrétée.

Ce paramètre permet de détecter une insuffisance rénale.

Lors d'une glomérulonéphrite aiguë, la protéinurie va augmenter puisque le glomérule ne va plus jouer son rôle de filtre.

La créatininémie va baisser pour les mêmes raisons et la créatininurie va augmenter.

3.4.2. Le compte d'Addis est une mesure du nombre de leucocytes qui passent dans l'urine par minute. La leucocyturie correspond à ce passage de leucocytes dans l'urine alors qu'ils en sont normalement absents.

Les 8 bandes de la cellule de Nageotte représentent un volume de 10 mm^3 (50 mm^3 : 5 car 8 bandes = 1/5 du volume total). Le nombre de cellules est donc de 180 pour 10 mm^3 donc 18/mm^3.

En 3 heures le volume d'urine est de 300 cm^3. Le nombre de cellules dans 300 cm^3 est de $5,4 \times 10^6$.

Donc le débit par minute est de 3×10^4 leucocytes.min^{-1} ($5,4 \times 10^6/180$ minutes).

3.4.3. Antistreptodornases.

Les antigènes qui correspondent aux antistreptodornases sont les streptodornases. Ces enzymes ont la propriété d'hydrolyser l'ADN.

4. Endocardites infectieuses

4.1. Une thrombopénie, un temps de Quick et un TCA très allongés orientent vers un syndrome de consommation dû à une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). La coagulation consomme plaquettes, fibrinogène et d'autres facteurs de la coagulation. C'est le déficit important en fibrinogène qui entraîne un allongement du temps de Quick et du TCA.

Un patient atteint par ce syndrome ne peut, dans l'immédiat, subir une intervention chirurgicale en raison des risques d'hémorragie.

4.2. La colonisation bactérienne des amas fibrinoplaquettaires a lieu lors d'épisodes bactériémiques. Les streptocoques responsables proviennent d'une muqueuse. Le plus souvent, il s'agit de la muqueuse buccale. La bactériémie survient soit lors de soins dentaires agressifs (détartrage, extraction d'une dent, etc.), soit lors du brossage des dents. L'importance de la bactériémie est proportionnelle au nombre de bactéries présentes sur la muqueuse et à l'importance du traumatisme de celle-ci. Il s'agit alors de streptocoques *viridans* α hémolytiques : *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius*, ou plus rarement de streptocoques non hémolytiques comme *S. milleri*.

Parfois, ce sont des bactéries de la muqueuse digestive qui passent de manière transitoire dans le sang, on retrouvera alors des streptocoques du groupe D : *Enterococcus faecalis, Streptococcus bovis*.

4.3. Homme de quarante ans souffrant d'endocardite

4.3.1. Interprétation des résultats de l'hémogramme.

Leucocytes	11.10^9/L	> 10.10^9/L	Légère hyperleucocytose
Granulocytes neutrophiles	80 % soit $8,8.10^9$/L	> $7,5.10^9$/L	Neutrophilie
Hémoglobine	102 g/L	< 130 g/L	Anémie (si la volémie est normale)
VGM	87 fL	entre 80 et 100 fL	Normocytose
CCMH	300 g/L	⩾ 300 g/L	Normochromie
Plaquettes	150.10^9/L	entre 150.10^9 et 400.10^9/L	Normal

Cet homme a donc une neutrophilie due à l'infection et une anémie normocytaire normochrome. Le nombre de plaquettes est normal.

4.3.2. – L'activité bactéricide *in vitro* est obtenue lorsqu'il ne reste pas plus de 0,01 % de survivants de l'inoculum de départ.

– Pour obtenir un meilleur effet bactéricide, on peut associer à la pénicilline G un aminoside car ces deux antibiotiques appartiennent à deux familles agissant différemment. Les β-lactamines fragilisent la paroi en agissant sur la synthèse du peptidoglycane et les aminosides peuvent plus facilement pénétrer jusqu'à leur cible cytoplasmique, le ribosome.

4.3.3. Allergie à la pénicilline.

Cette allergie est une réaction d'hypersensibilité de type I ou hypersensibilité immédiate ou, encore, anaphylaxie.

Mécanisme physiopathologique

Les IgE, anticorps cytophiles synthétisés en réponse à l'introduction de l'allergène, se fixent sur diverses cellules, en particulier les mastocytes et les granulocytes basophiles. Lors d'un nouveau contact avec l'allergène, celui-ci se lie aux IgE réalisant un « pontage » entre deux IgE voisines, ce qui induit un signal d'activation de la cellule. Celle-ci libère des médiateurs préformés comme l'histamine, d'une part, et synthétise et sécrète d'autres médiateurs comme des prostaglandines et leucotriènes, d'autre part.

Conséquences

Les médiateurs libérés présentent diverses activités sur les tissus et cellules : augmentation de la perméabilité vasculaire, contraction des muscles lisses, agrégation des plaquettes. Ces phénomènes sont à l'origine des manifestations cliniques de l'allergie.

BIOLOGIE HUMAINE 1998 : LE DIABÈTE INSULINODÉPENDANT

1. L'insuline

1.1. Biosynthèse et sécrétion de l'insuline

La biosynthèse de l'insuline débute par une transcription du gène de l'insuline en ARN prémessager dans le noyau. Cet ARN subit ensuite, toujours dans le noyau, une maturation avec excision des introns et épissage des exons. Il devient l'ARN messager.

L'étape de traduction a lieu sur les ribosomes du réticulum endoplasmique rugueux. Une chaîne polypeptidique de pré-pro-insuline est synthétisée.

Ce polypeptide subit une double étape de maturation dans le réticulum endoplasmique et dans l'appareil de Golgi :

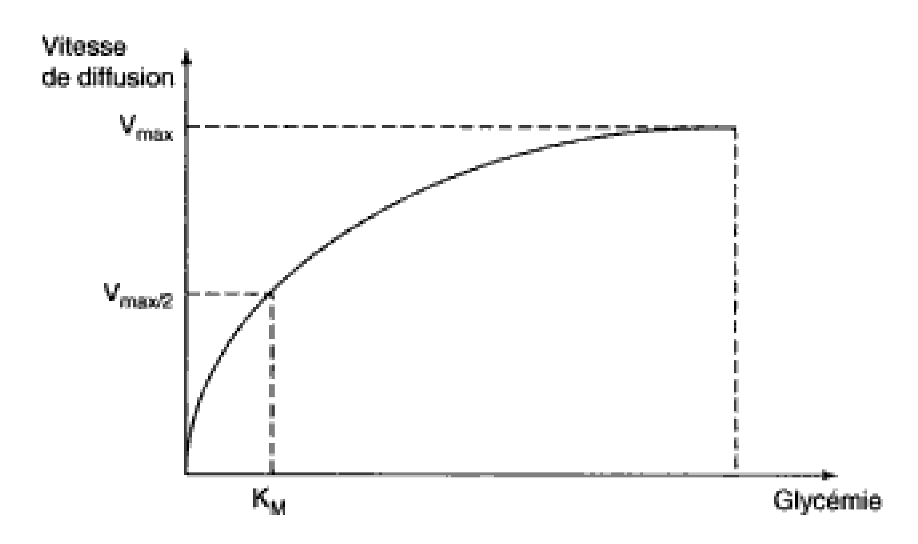
– il est clivé pour donner la pro-insuline et le peptide signal;
– la pro-insuline donne ensuite l'insuline et le peptide C (dans les vésicules épineuses de l'appareil de Golgi).

Le stockage est effectué dans les vésicules golgiennes lisses (perte de clathrine) et la sécrétion est une exocytose.

1.2. Insuline et métabolisme énergétique

1.2.1. Entrée du glucose dans les cellules.

1.2.1.1. Courbe.



La K_M est la constante de dissociation du complexe GluT-glucose. Plus elle est faible plus l'affinité est grande (voir courbe). Dans cette étude, GluT4 a la plus faible valeur de K_M, donc la plus grande affinité pour le glucose.

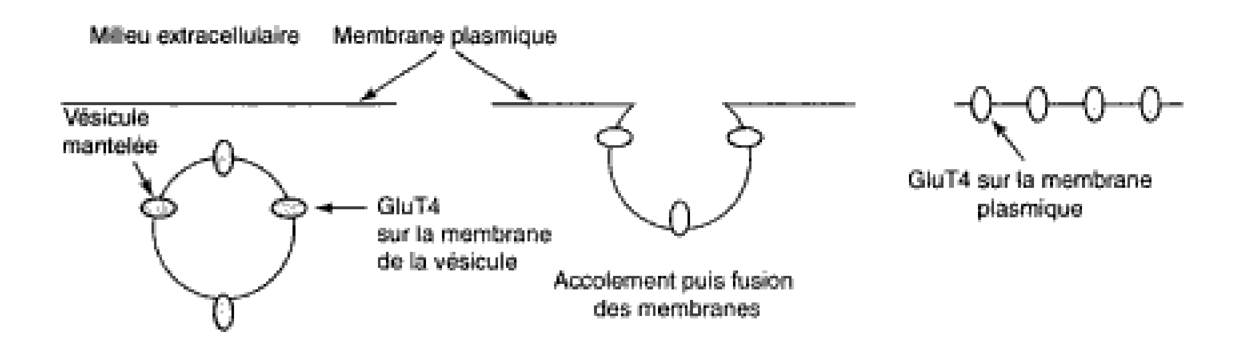
Équation de Michaelis

$$v = V_{max} \cdot \frac{[\text{glucose}]}{K_M + [\text{glucose}]}$$

Tissu	v	Commentaire
Foie à jeun	$v = V_{max} \times \frac{1}{20+1} = V_{max} \times \frac{1}{21}$	La vitesse de diffusion est très faible dans le foie à jeun comparée à la vitesse dans le foie en période post-prandiale
Foie après un repas	$v = V_{max} \times \frac{20}{20+20} = V_{max} \times \frac{1}{2}$	
Muscle et tissu adipeux	$v = V_{max} \times \frac{5}{5+5} = V_{max} \times \frac{1}{2}$	La vitesse est identique à la vitesse dans le foie en période post-prandiale

Le transporteur ne risque pas d'être saturé puisque $v < V_{max}$ dans les trois cas.

1.2.1.2. Exocytose



L'insuline augmente la vitesse de diffusion du glucose à travers la membrane des myocytes et des adipocytes et, donc, stimule l'entrée du glucose dans ces cellules.

1.2.2. Phosphorylation du glucose

1.2.2.1. Équations.

CH_2OH … OH, OH, OH, (H,OH) + ATP ⟶ CH_2O Ⓟ … OH, OH, OH, (H,OH) + ADP

Couplage énergétique :

La réaction peut être écrite sous forme de deux demi-réactions :

$$\text{glucose} + \text{Pi} \longrightarrow \text{glucose 6 phosphate} + H_2O$$

avec : $\Delta G_0'$ de formation de la liaison ester phosphate du G6P = + 14 kJ/mol

$$\text{ATP} + H_2O \longrightarrow \text{ADP} + \text{Pi}$$

avec : $\Delta G_0'$ d'hydrolyse d'une liaison phosphoanhydride de l'ATP = – 30 kJ/mol

d'où $\Delta G_0'$ de la réaction = + 14 – 30 = – 16 kJ/mol.

Le $\Delta G_0'$ de la réaction est inférieur à 0, donc le couplage est possible.

1.2.2.2. Nom de chacune des enzymes.

E1 = hexokinase ; E2 = glucokinase.

1.2.2.3. L'insuline, en augmentant la quantité de glucokinase produite, active la phosphorylation du glucose. La concentration intracellulaire du glucose diminue. Le gradient chimique du glucose est augmenté, donc l'entrée est augmentée. Cette entrée est une diffusion facilitée.

1.2.3. Devenir du G6P

Nom de chacune des enzymes : E3 = glycogène synthétase ; E4 = glycogène phosphorylase.

$$\text{enzyme-O-P} + H_2O \longrightarrow \text{enzyme-OH} + \text{Pi}$$

L'insuline stimule la déphosphorylation des deux enzymes. La glycogène synthétase sera activée tandis que ce sera l'inverse pour la glycogène phosphorylase. En conséquence, la glycogénogenèse sera stimulée et la glycogénolyse ralentie.

1.2.4. Perturbations métaboliques en l'absence d'insuline.

1.2.4.1. Nom de chacun des métabolites : M1 = pyruvate, M2 = acétyl coA.

Métabolismes	**Perturbations**	**Conséquence**
Glucidique	– diminution de l'entrée du glucose dans les cellules musculaires et adipeuses ; – diminution de la phosphorylation du glucose dans l'hépatocyte ; – diminution de la glycogénogenèse et augmentation de la glycogénolyse ; – diminution de la glycolyse et augmentation de la néoglucogenèse.	Hyperglycémie et glucosurie
Lipidique	– diminution de la lipogenèse et augmentation de la lipolyse ; – diminution de la biosynthèse des acides gras et augmentation de la β-oxydation ; – ralentissement du cycle de Krebs et augmentation de la cétogenèse (dû au déficit d'oxaloacétate résultant de la réduction de la glycolyse et à l'augmentation de la néoglucogenèse).	Augmentation de la production d'acétyl coA Hypercétonémie et cétonurie

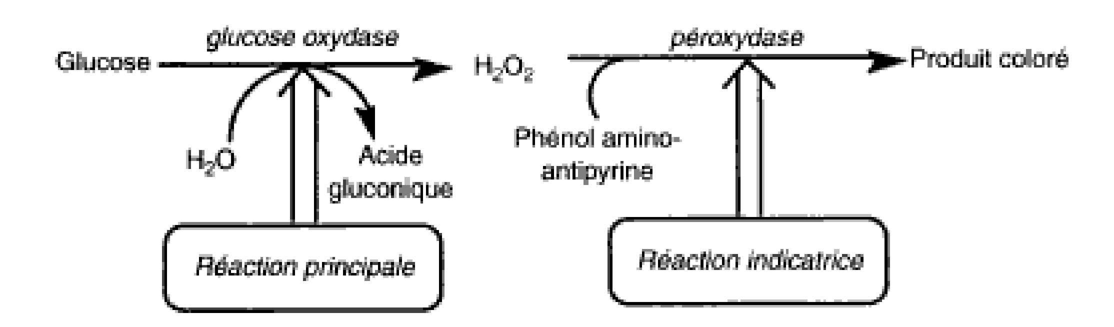
1.2.4.2. L'absence d'insuline entraîne une cétogenèse importante. L'augmentation des corps cétoniques acides (β-hydroxybutyrate et acétoacétate) conduit à une acidose métabolique.

2. Diagnostic du diabète

2.1. Détermination de la glycémie

2.1.1. Le prélèvement sanguin est effectué sur antiglycolytique et anticoagulant en évitant soigneusement l'hémolyse. Il sera conservé au froid après centrifugation.

2.1.2. Principe



Le dosage est une méthode enzymatique en point final (mesure en spectrophotométrique d'un des produits après réaction totale).

2.2. Épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO)

Le patient X est diabétique car :

– la glycémie de base ou à jeun est très élevée;
– la flèche hyperglycémique est très élevée et tardive;
– le temps de retour à la normale est plus long que chez le sujet normal;
– l'hypoglycémie du patient normal n'est pas observée.

3. Surveillance biologique du traitement à l'insuline

3.1. L'hémoglobine A1 est une hétéroprotéine (chromoprotéine) tétramérique. Elle est constituée d'une partie protéique (globine) avec quatre chaînes qui sont deux à deux identiques (2 α et 2 β). À chaque chaîne est associé un hème avec un atome de fer sous forme Fe^{2+}.

3.2. L'hémoglobine, molécule transporteuse du dioxygène

3.2.1. Le dioxygène se fixe sur chaque atome de fer, donc une molécule d'hémoglobine peut fixer quatre molécules de dioxygène.

Un changement de conformation s'opère lors de la fixation du dioxygène. Mais ce changement est de type coopératif, c'est-à-dire que la fixation d'une molécule sur une sous-unité entraîne une modification de l'affinité des autres sous-unités pour le dioxygène (et ainsi de suite pour les autres sous-unités).

3.2.2. Les principaux facteurs diminuant l'affinité de l'hémoglobine pour le dioxygène sont :

– la baisse de pO_2;
– une baisse de pH;
– une augmentation du 2,3 DPG;
– une augmentation de la pCO_2.

Ces facteurs interviennent au niveau des cellules consommatrices de dioxygène.

3.3. La concentration en hémoglobine glyquée chez le diabétique dont le traitement est mal équilibré sera augmentée proportionnellement à l'intensité et à la durée de l'hyperglycémie des semaines précédentes.

Le dosage de l'hémoglobine glyquée représente « la mémoire » de la glycémie alors que la détermination de la glycémie donne une indication ponctuelle.

3.4. Électrophorèse de l'hémoglobine

3.4.1. Ce dosage est réalisé sur un hémolysat de la fraction érythrocytaire.

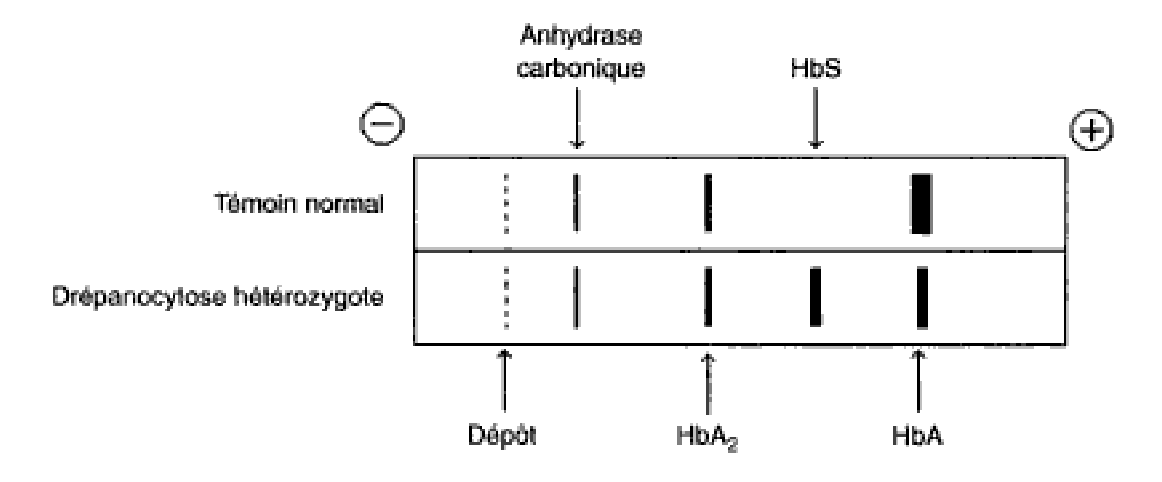
Principe : cette méthode est fondée sur la séparation de molécules chargées électriquement, par migration dans un champ électrique sur un support imprégné d'un solvant tamponné. Elle est fondée sur les différences de charges, dues aux différences de pi des molécules. L'hémoglobine glyquée a un pi plus faible car les groupements NH_2 engagés dans la liaison avec le glucose ne sont plus ionisables.

La lecture est densitométrique et le résultat est exprimé en pourcentage par rapport à l'hémoglobine totale.

3.4.2. L'électrophorèse de l'hémoglobine est utilisée pour le diagnostic des anémies hémolytiques dues à la présence d'une hémoglobine anormale (hémoglobine S dans la drépanocytose par exemple) et pour le diagnostic des thalassémies.

Exemple de résultat :

Électrophorèse de l'hémoglobine sur cellogel à pH 9



4. Diabète et auto-immunité

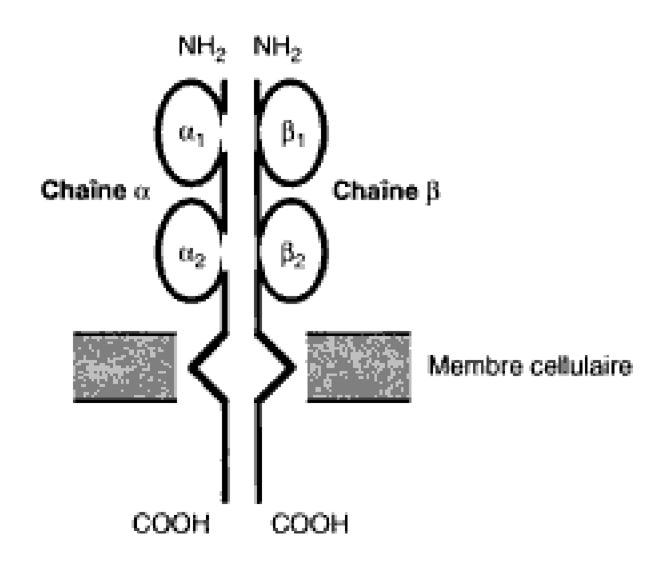
4.1. Les auto-anticorps anti cellules β des îlots de Langerhans du pancréas, en détruisant ces cellules, provoquent une insuffisance de production d'insuline qui est à l'origine du diabète insulinodépendant.

4.2. Risque génétique et groupes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

4.2.1. Parmi les cellules exprimant les antigènes d'histocompatibilité de classe II, on retrouve essentiellement les macrophages et les lymphocytes B.

4.2.2. Les antigènes du CMH de classe II sont formés de deux sous-unités glycoprotéiques associées de façon non covalente. Ces chaînes, α et β, présentent une partie extracellulaire (avec deux domaines), une partie transmembranaire et une autre intracytoplasmique.

Schématiquement :



4.2.3. Réaction de microcytotoxicité permettant la mise en évidence des antigènes.

Les lymphocytes du sujet sont mis en présence de :

- sérums anti-CMH II (dont les anti-CMH I ont été préalablement adsorbés) provenant, par exemple, de sujets polytransfusés ;
- complément ;
- colorant (bleu Trypan par exemple).

Si les lymphocytes présentent des antigènes du CMH II dont la spécificité correspond à celle des anticorps des sérums, il y a formation d'un complexe antigène-anticorps, fixation du complément, formation du complexe d'attaque membranaire visualisée par la coloration du lymphocyte.

4.3. Différentes étapes de la réaction d'immunofluorescence indirecte permettant de mettre en évidence les auto-anticorps anti-cellules β des îlots de Langerhans :

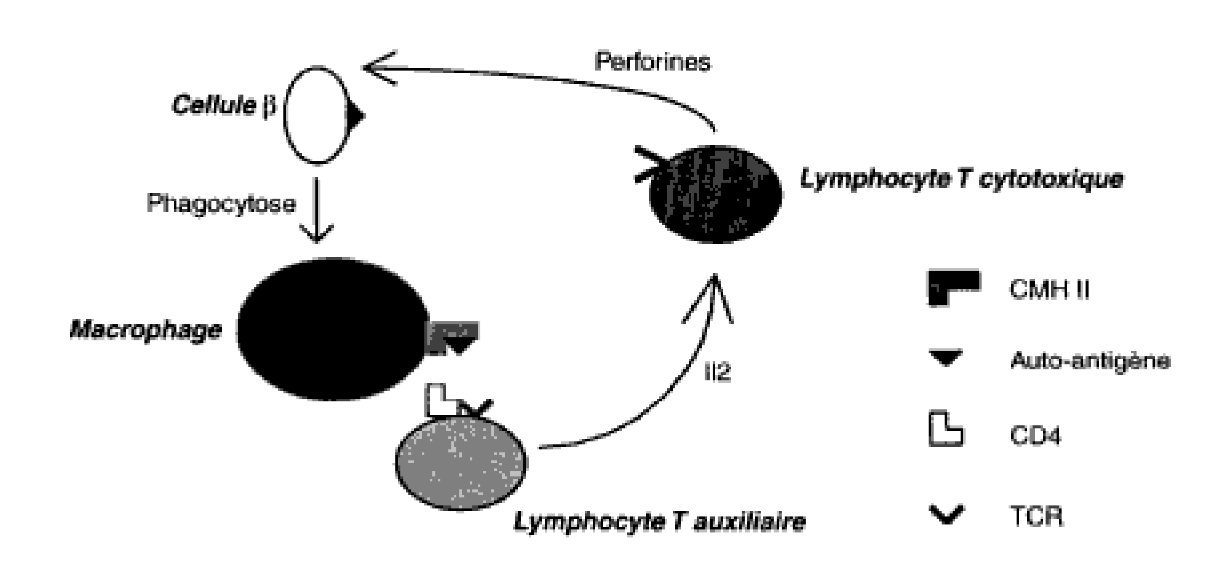
- dépôt du sérum à tester sur la lame où les coupes de pancréas ont été fixées ;
- incubation puis lavages pour éliminer les éléments fixés de façon non spécifique ;
- ajout d'antiglobuline marquée par un fluorochrome ;
- incubation puis lavages ;
- lecture au microscope UV, une fluorescence des îlots traduisant la présence d'auto-anticorps.

4.4. Caractère auto-immun de la maladie et rupture de la tolérance immunitaire

4.4.1. Durant les périodes fœtale et néonatale, les clones de lymphocytes T spécifiques d'une structure particulière de l'organisme (spécifiques d'un antigène du « soi ») sont détruits. Ces clones qui pourraient réagir contre les propres cellules de l'organisme sont des clones « interdits » car dangereux.

4.4.2. Les auto-antigènes des cellules β sont, après phagocytose et association aux antigènes du CMH II, présentés par les macrophages aux lymphocytes T auxiliaires, CD4 +, porteurs du récepteur à l'antigène (TCR) correspondant. Ces lymphocytes T auxiliaires sont alors activés, ils sécrètent de l'interleukine 2 qui va induire l'activation des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques des antigènes des cellules β. Par l'intermédiaire de perforines, les lymphocytes T cytotoxiques détruisent ces cellules β.

Schématiquement :



5. Diabète et infections opportunistes

5.1. Diabète et infections bactériennes

5.1.1. *Bacteroides* est une bactérie anaérobie stricte de la flore de Veillon. Ce sont des bacilles à Gram négatif pâle, courts, souvent polymorphes, immobiles, non sporulés.

5.1.2. La capsule protège la bactérie de la phagocytose et lui permet ainsi d'échapper à la vigilance des macrophages. L'endotoxine des bactéries à Gram négatif est libérée après la lyse des bactéries. Elle a une action leucopéniante qui ralentit la réponse immunitaire. Les enzymes favorisent la progression des bactéries dans les tissus et donc la dissémination de l'infection.

5.1.3. Les selles doivent être fraîchement émises car les anaérobies strictes sont sensibles au dioxygène. Le milieu doit être riche car les *Bacteroides* sont exigeants, on peut utiliser un milieu de Schaedler au sang. Les selles étant riches en bactéries, le milieu doit contenir des antibiotiques (néomycine et vancomycine). L'incubation se fait en anaérobiose, à 37 °C pendant 48 heures.

5.1.4. – Une β-lactamase est une enzyme qui hydrolyse les antibiotiques de la famille des β-lactamines par ouverture du cycle β-lactame. L'antibiotique est alors inactif.

- Les β-lactamines ont pour cible des transpeptidases de l'espace périplasmique qui interviennent dans la synthèse du peptidoglycane. Ces cibles sont appelées PLP (protéine liant la pénicilline).
- Ces β-lactamases sont codées par un ADN qui est intégré au chromosome bactérien. Elles sont dites non inductibles car leur synthèse a lieu même en absence d'un inducteur.
- Les inhibiteurs de β-lactamases sont des β-lactamines ayant une affinité plus grande pour les β-lactamases que pour les PLP, c'est le cas de l'acide clavulanique, du sublactam, etc.

5.1.5. Un transposon est une portion d'ADN portant une série de gènes pouvant se déplacer le long du chromosome. Il peut s'intégrer au chromosome ou au plasmide. Il se déplace entre les plasmides et le chromosome. Lorsqu'il porte des gènes de résistance aux antibiotiques, cela entraîne une dissémination de la résistance aux antibiotiques.

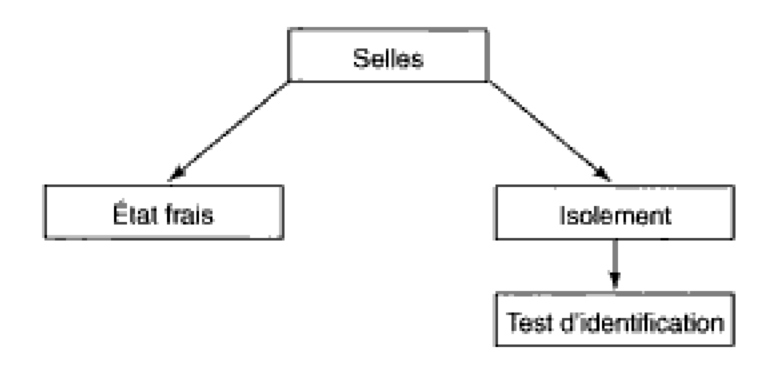
Le plasmide, contrairement au transposon, ne peut se déplacer le long de l'ADN.

5.2. Diabète et infections mycosiques

5.2.1. Une mycose s'installe le plus souvent sur un terrain affaibli :

- en cas de malnutrition ;
- lorsque les défenses immunitaires sont diminuées par une corticothérapie, une chimiothérapie, une infection maligne, une infection virale (VIH) et chaque fois que les défenses cellulaires sont déprimées ;
- dans certaines hormonothérapies.

5.2.2. À l'examen direct du prélèvement, on observe des levures, parfois des filaments. L'isolement est réalisé sur un milieu Sabouraud + Chloramphénicol et incubé 24 heures à 37 °C. À partir des colonies obtenues, on réalise un test de blastèse sur du sérum à l'aide d'un inoculum peu abondant en 3 à 4 heures à 37 °C. Si le test se révèle positif par la présence de tubes germinatifs, le diagnostic de *Candida albicans* est posé. En cas de résultat négatif une galerie complète d'identification est ensemencée.



BIOLOGIE HUMAINE 1999 : LE MYÉLOME MULTIPLE OU MALADIE DE KAHLER

1. Exploration de la pathologie osseuse

1.1. Les facteurs vitaminiques et hormonaux qui interviennent dans le métabolisme des phosphates et du calcium sont la vitamine D, la parathormone et la calcitonine.

Action sur le métabolisme de ces deux ions :

- la vitamine D est hypercalcémiante et hyperphosphorémiante et agit au niveau de l'intestin ;
- la parathormone est hypercalcémiante et hypophosphorémiante et agit au niveau des os et des reins ;
- la calcitonine est hypocalcémiante et hypophosphorémiante et agit au niveau des os et des reins.

1.2. Dosage de la phosphatase alcaline

1.2.1. Définition de l'activité catalytique d'une enzyme. Le dosage d'une enzyme requiert des conditions où $v_i = V_{max}$ (substrat saturant). La V_{max} correspond à la quantité maximale de produit formé ou de substrat transformé par unité de temps, par une certaine quantité d'enzyme, dans des conditions expérimentales définies. Dans ces conditions, la concentration catalytique ou concentration d'activité enzymatique correspond à l'activité enzymatique par litre de solution d'enzyme.

Intérêt d'opérer en milieu tamponné et dans un bain thermostaté.

L'activité enzymatique est dépendante du pH et de la température :

- travailler en milieu tamponné permet de s'affranchir des variations de pH au cours de la mesure, pH proche de l'optimum de la PAL ;
- travailler en bain thermostaté permet de s'affranchir des variations de température au cours de la mesure.

Le choix de 30 °C est une recommandation de la SFBC (standardisation).

1.2.2. Le substrat utilisé, le nitro-4-phénylphosphate, est incolore. Son hydrolyse conduit au nitro 4-phénol coloré en jaune en milieu alcalin (pH : 10,5), ce qui permet un suivi en spectrophotométrie à 405 nm.

La mesure d'une activité nécessite d'être en excès de substrat : S = 10 K_m donc $v_i \approx V_{max}$.10 K_m = 15 mmol.L^{-1} ≈ concentration 16 mmol.L^{-1}.

1.2.3. Une augmentation trop rapide de l'absorbance correspond à une consommation rapide du substrat avec le risque d'un épuisement rapide du substrat. Une erreur serait possible par défaut.

2. Exploration hématologique

2.1. Hémoglobine < 130 g/L donc anémie.

80 fL < VGM < 100 fL donc normocytose.
CCMH > 300 g/L donc normochromie.

Il y a donc anémie normocytaire normochrome avec des rouleaux d'hématies sur frottis. Les leucocytes et les plaquettes sont normaux.

2.2. Principe de la mesure de la vitesse de sédimentation (VS)

Le sang, recueilli sur anticoagulant et laissé au repos, sédimente. Il y a d'abord formation de rouleaux d'hématies puis sédimentation de ceux-ci.

La VS est la mesure de la hauteur de plasma surnageant au bout d'une heure.

Ici la VS est augmentée, les rouleaux d'hématies étant déjà présents dans le sang circulant.

3. Examen chimique et cytobactériologique de l'urine (ECBU)

3.1. Étapes de l'élaboration de l'urine :

Lieu	**Fonction**	**Exemple**
Filtration glomérulaire	Ultrafiltration du plasma	
Transports tubulaires		
Tube contourné proximal	Réabsorption Sécrétion	Glucose, urée… NH_3, H_3O^+…
Anse de Henlé	Réabsorption	
Tube contourné distal	Réabsorption Sécrétion	Na^+ … K^+ …
Tube collecteur	Réabsorption Sécrétion	H_2O, Na^+ … K^+ …

Les transports sont actifs ou passifs (avec ou sans intervention d'hormones).

3.2. L'urine doit être prélevée de préférence le matin (l'urine doit avoir séjourné au moins trois heures dans la vessie), après une toilette antiseptique soigneuse et dans un flacon stérile. Le premier jet doit être éliminé.

3.3. Les résultats montrent une absence d'infection, car la leucocyturie est normale et le nombre de bactéries est inférieur à 10^5 par mL. L'absence de nitrites est également en faveur d'une absence d'infection.

– Un cylindre hyalin correspond à un moulage de tubule rénal. Ce sont les protéines urinaires qui, à pH acide, forment ce moulage. Ces cylindres sont présents lors des protéinuries.

4. Étude des protéines

4.1. Les immunoglobulines

4.1.1. Il existe cinq classes d'immunoglobulines :

– les immunoglobulines G (IgG);

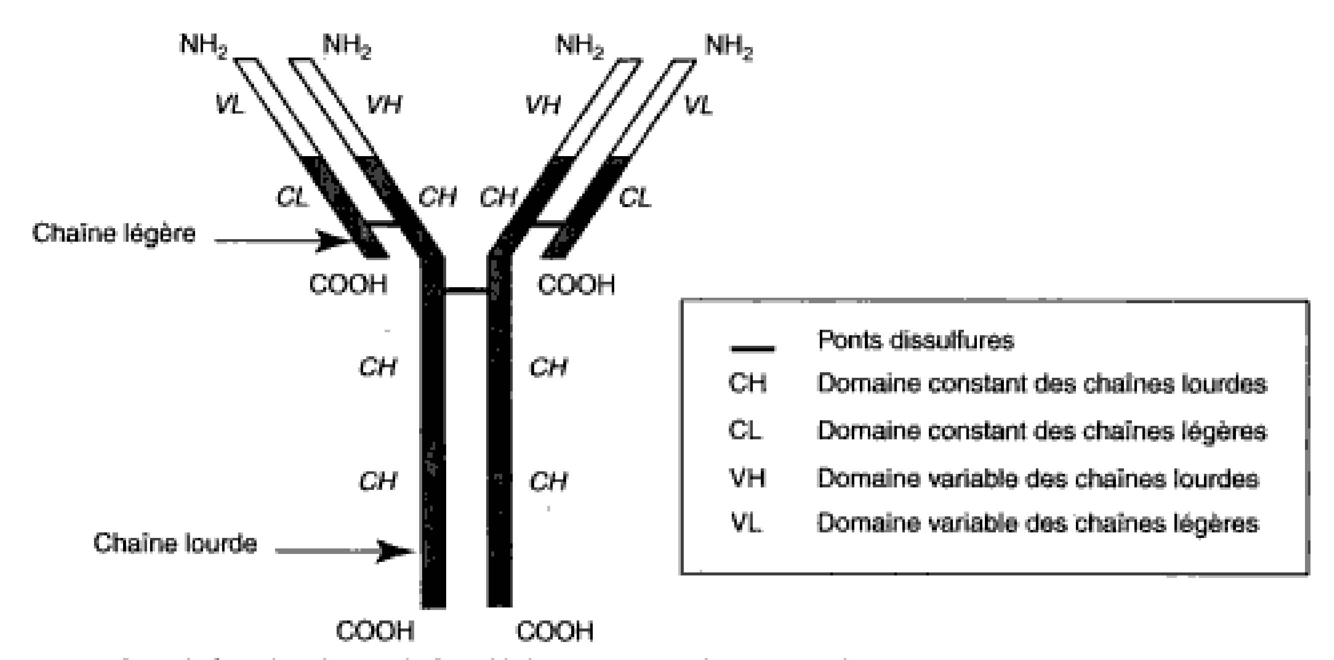
– les immunoglobulines M (IgM);

– les immunoglobulines A (IgA);

– les immunoglobulines D (IgD);

– les immunoglobulines E (IgE).

4.1.2. Toutes les immunoglobulines ont la même structure de base qui peut être représentée par le schéma suivant :



Les chaînes lourdes et chaînes légères sont semblables deux à deux

Nature des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines

Immunoglobulines	Chaînes lourdes	Chaînes légères
IgG	γ	κ ou λ
IgM	μ	κ ou λ
IgA	α	κ ou λ
IgD	δ	κ ou λ
IgE	ε	κ ou λ

4.1.3. Une même structure de base d'immunoglobuline peut correspondre à des anticorps de spécificités différentes. En effet, des modifications ponctuelles dans la nature des acides aminés des zones hypervariables donnent une très grande diversité de paratopes sans pour autant changer la structure dimensionnelle globale de l'immunoglobuline.

Au cours d'une immunisation, l'organisme synthétise d'abord des IgM puis des IgG. Ce phénomène, appelé commutation isotypique, correspond aux synthèses sucessives de deux immunoglobulines ayant le même idiotype mais d'isotypes différents. Les isotypes, localisés dans les domaines constants, sont codés par des gènes identiques chez tous les individus d'une même espèce.

4.2. Électrophorèse et immuno-électrophorèse

4.2.1. Le pic gamma est très important, ce qui, compte tenu de la pathologie (maladie de Kahler), paraît logique.

4.2.2. Principe de l'immuno-électrophorèse

L'immuno-électrophorèse comporte deux temps :

– électrophorèse en gel d'agarose : séparation électrophorétique des protéines du sérum. À pH alcalin, les protéines sont sous forme d'anions. Pour résumer, les protéines sont soumises à deux forces principales :
  - le courant électrique (ddp donnée et I donnée) qui les entraîne vers l'anode;
  - le courant d'endosmose : courant liquidien dû au gel qui tend à entraîner toutes les protéines vers la cathode et freine donc leur déplacement vers l'anode.

  La migration se fait globalement vers l'anode ;
– précipitation après immuno-diffusion double :
  - les protéines antigéniques précipitent après double diffusion contre un antisérum contenant les anticorps correspondant aux antigènes.

  À chaque antigène correspond une arc de précipitation.

  L'analyse des résultats :
  - une anomalie quantitative et qualitative des chaînes γ peut être observée, donc IgG ;
  - un excès de chaîne κ peut aussi être observé, donc ce sont des IgG à chaînes κ, avec déficit en chaîne α et μ.

5. Exploration médullaire

5.1. La ponction est réalisée à l'aide d'un trocart par aspiration de la moelle. Elle permet :

– d'apprécier la dureté de l'os ;
– d'établir le myélogramme sur frottis coloré ;
– de réaliser des réactions cytochimiques ;
– de faire une mise en culture et une étude cytogénétique.

La biopsie est le prélèvement d'une « carotte osseuse » en vue d'un examen histologique. Elle permet d'étudier :

– la richesse de la moelle ;
– l'importance du tissu adipeux ;
– la trame réticulinique.

5.2. Principales étapes de l'observation d'un frottis médullaire.

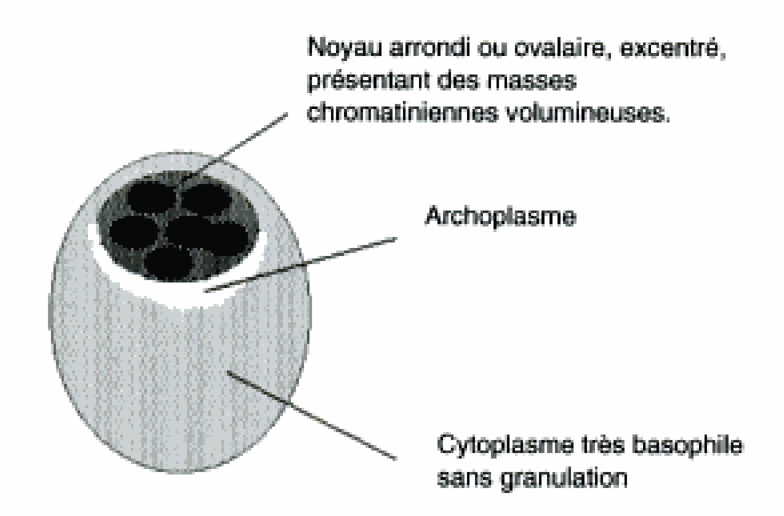
Observation au faible grossissement :

– évaluation de la richesse de la moelle en cellules nucléées ;
– évaluation de la richesse en mégacaryocytes ;

– observation du polymorphisme ou du monomorphisme cellulaire ;
– repérage d'éventuels amas cellulaires anormaux (métastase).

Observation à fort grossissement :
– identification des cellules ;
– établissement du pourcentage de chaque type cellulaire.

5.3. Schéma d'un plasmocyte sur frottis coloré au MGG.



La fonction du plasmocyte est la synthèse et la sécrétion d'immunoglobuline.

La basophilie importante du cytoplasme est liée au développement important du réticulum endoplasmique granuleux (synthèse protéique intense).

L'archoplasme est dû à la présence de l'appareil de Golgi qui joue un rôle dans la sécrétion des protéines.

5.4. Les plasmocytes dérivent des lymphocytes B.

5.5. Les principales dystrophies des plasmocytes sont :
– une taille très élevée ;
– un noyau arrondi, volumineux, à chromatine peu condensée (plasmocytes immatures) ;
– la présence de plusieurs noyaux.

5.6. Le bilan des investigations permet de conclure à un myélome multiple.

5.6.1. En cas de myélome multiple :
– l'os est mou ;
– la moelle est riche ;
– l'infiltration plasmocytaire est importante (> 15 %) ;
– certains plasmocytes sont dystrophiques.

5.6.2. Il s'agit d'une prolifération maligne monoclonale plasmocytaire localisée dans la moelle osseuse, avec pour conséquences la production d'une immunoglobuline monoclonale et l'apparition de lésions osseuses.

5.6.3. La seule conséquence de la dysglobulinémie sur l'hémogramme est la présence de rouleaux d'hématies sur frottis sanguin.

6. Infections respiratoires

6.1. L'arbre respiratoire est protégé par un épithélium formé, au niveau des bronches, de cellules ciliées et de cellules à mucus qui empêchent la fixation des germes. La toux permet de les évacuer et les macrophages alvéolaires phagocytent ceux qui ont pu pénétrer.

6.2. L'examen macroscopique permet la recherche des particules purulentes ou la présence de sang.

L'examen microscopique au faible grossissement renseigne sur la richesse en PN et en cellules épithéliales. L'abondance de ces dernières montre la présence de salive. L'aspect salivaire du crachat doit entraîner un arrêt de l'analyse et la demande d'un autre prélèvement.

Au fort grossissement, on observe la flore, on note la prédominance d'une morphologie permettant une orientation du diagnostic.

La fluidification par des enzymes mucolytiques permet une homogénéisation du crachat.

Le crachat fluidifié est mis en culture sur gélose au sang pour les pneumocoques et sur gélose chocolat enrichie en vitamines pour les hémophiles et autres germes exigeants.

L'observation des cultures permet une évaluation du nombre de colonies suspectes.

6.3. Les colonies de pneumocoques sont muqueuses, transparentes et α hémolytiques

À l'examen microscopique on note la présence de diplocoques à Gram positif, la catalase est négative.

L'identification rapide est réalisée grâce à l'agglutination du pneumocoque par des anticorps anti-antigènes capsulaires fixés sur des particules de latex.

6.4. La sensibilité diminuée est recherchée en déterminant la CMI par la technique E-test®, la CMI classique étant difficilement réalisable en raison des exigences de culture du pneumocoque.

Une technique simple permet de dépister ces souches : elle consiste à poser un disque d'oxacilline sur l'antibiogramme par diffusion et, si le diamètre d'inhibition est inférieur ou égal à 19 mm (zone « résistant »), on suspecte une souche à sensibilité diminuée.

6.5. Un virus est une particule composée d'un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN). Il se reproduit à partir de son matériel génétique par réplication et grâce aux systèmes de biosynthèse d'une cellule vivante. C'est un parasite obligatoire.

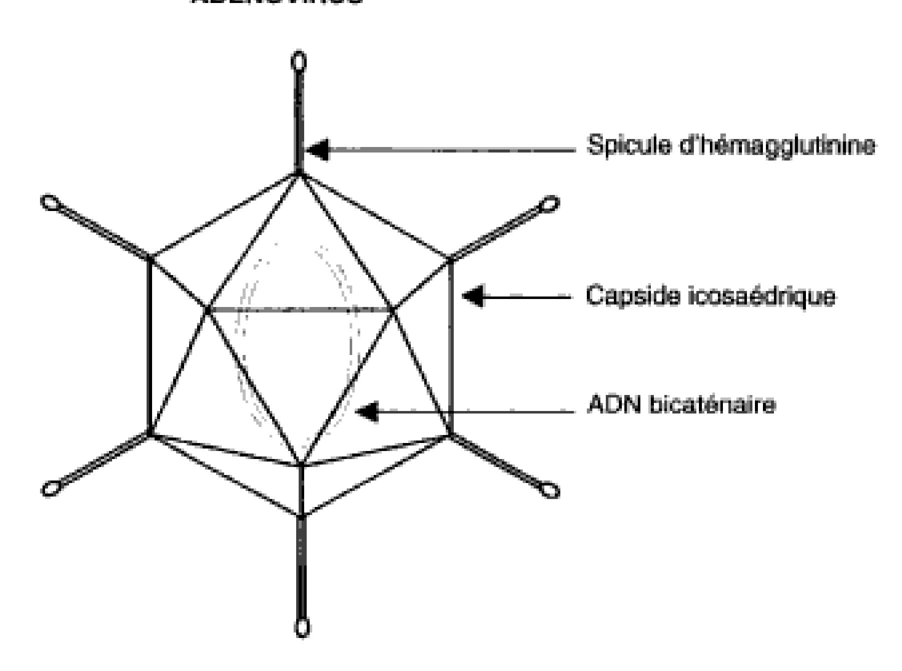
Le système de classification est fondé sur quatre caractères :

– la nature de l'acide nucléique ;

– la symétrie de la nucléocapside, hélicoïdale ou icosaédrique (« cubique ») ;

– la présence d'une enveloppe, virus enveloppé ou nu ;
– le nombre de capsomères des capsides icosaédriques ou le diamètre des capsides hélicoïdales.

Schéma d'un adénovirus



6.6. Lorsque les cellules sont arrivées à confluence, il faut les repiquer sur un milieu neuf.

Les étapes du repiquage sont les suivantes :

– élimination du milieu initial ;
– addition de trypsine pour détacher les cellules de leur support et les isoler les unes des autres. La trypsinisation est arrêtée par ajout de milieu neuf enrichi en sérum de veau fœtal ;
– dénombrement des cellules dans un volume déterminé ;
– mise en culture d'un inoculum cellulaire calibré dans un milieu neuf, de façon à apporter un nombre défini de cellules par flacon ;
– incubation à 37 °C sous CO_2. Les cellules vont se fixer à la paroi du flacon et se multiplier pour former un nouveau tapis.

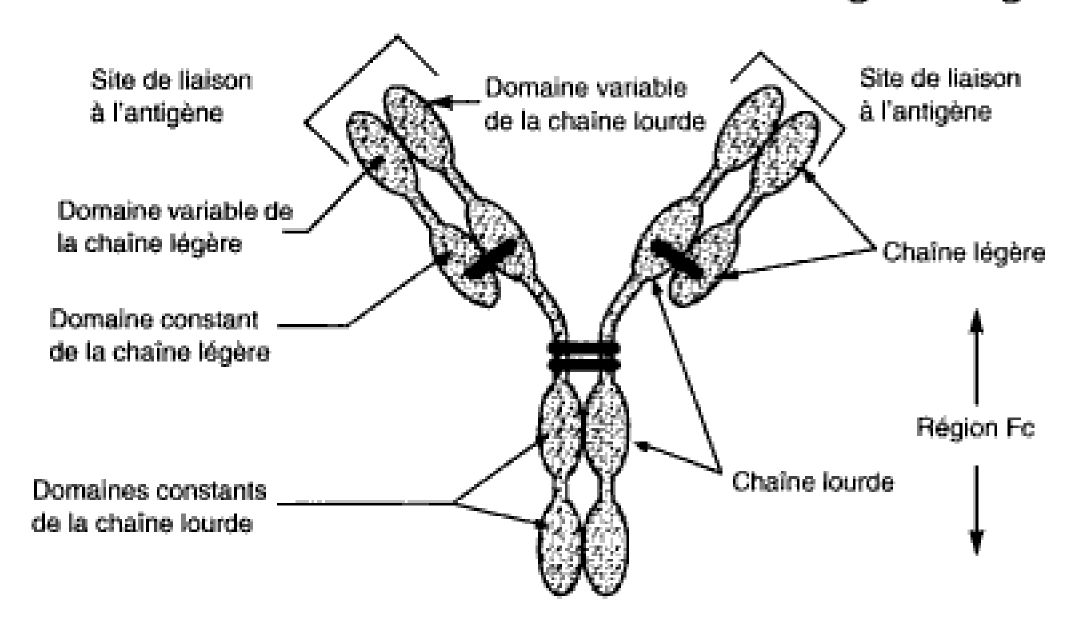
BIOLOGIE HUMAINE 2000

1. Relations structure-fonctions

1.1. Structure

1.1.1. Schéma

Schéma de la structure de base d'une immunoglobuline IgG



1.1.2. Les immunoglobulines

1.1.2.1. Beaucoup de protéines de la surface externe de la membrane ainsi que des protéines sécrétées sont liées de façon covalente à des résidus glucidiques. Ces résidus glucidiques sont additionnés lors du passage des protéines dans le réticulum endoplasmique et dans l'appareil de Golgi. Les glycoprotéines peuvent contenir jusqu'à 50 % de glucides voire plus, mais le plus souvent c'est la partie protéique qui est prédominante.

1.1.2.2. Niveaux d'organisation moléculaire des protéines.

Structure primaire : c'est l'enchaînement ordonné des acides aminés par des liaisons peptidiques de l'extrémité N terminale vers l'extrémité C terminale. Cette structure est contrôlée génétiquement.

Structure secondaire : elle correspond à l'organisation de certaines régions de chaîne polypeptidique sous l'influence de liaisons hydrogènes entre les CO et les NH des liaisons peptidiques. Deux types d'organisation peuvent être mis en évidence :

– en hélice α, liaisons H intrachaînes, parallèles à l'axe de l'hélice ;
– en feuillet β plissé, liaisons H intra ou interchaînes, perpendiculaires à l'axe de la chaîne peptidique.

Structure tertiaire : c'est la structure tridimensionnelle de la protéine, sous l'influence de liaisons mettant en jeu les chaînes latérales des acides ami-

nés, entre des acides aminés éloignés dans la structure primaire. C'est cette structure minimum qui confère à la protéine son « activité biologique ».

Structure quaternaire : certaines protéines sont formées de l'assemblage de plusieurs chaînes polypeptidiques (sous-unités ou monomères) possédant chacune leur structure I, II ou III et associées par des liaisons faibles.

Les liaisons mises en jeu sont des liaisons hydrogène, ionique, Van der Waals, hydrophobe, coordinence, pont disulfure.

1.1.2.3. Les ponts disulfure interchaînes, participant à la stabilisation de la structure quaternaire des immunoglobulines, se forment à partir de la cystéine.

1.2. Fonctions

1.2.1. La structure primaire des régions peptidiques responsables de la liaison à l'antigène présente des séquences en acides aminés d'une grande variabilité.

1.2.2. Les différentes classes d'anticorps

	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
Valence théorique	2	10	2 ou 4 selon qu'il s'agit d'une IgA mono ou dimérique	2	2
Fonctions liées au fragment Fc	– Activation du complément – Opsonisation (fixation aux récepteurs membranaires des phagocytes)	Activation du complément			

2. Pathologies liées aux anticorps

Les pathologies auto-immunes peuvent être responsables d'anémie hémolytique. Il s'agit parfois d'hémolyse intravasculaire aiguë d'apparition brutale.

2.1. Aspect hématologique

2.1.1. Une maladie auto-immune est une maladie due à la synthèse, par l'organisme, d'anticorps dirigés contre ses propres structures (auto-anticorps).

Dans les anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) par exemple, l'organisme synthétise des auto-anticorps anti-hématies.

2.1.2. En cas de thalassémie, la synthèse de l'hémoglobine est très perturbée et les hématies sont hypochromes (CCMH $<$ 300 g/L). Les mitoses dépendent de la saturation du cytoplasme des érythroblastes en hémoglobine. Ici, le nombre de mitoses sera augmenté et il y aura microcytose mais l'érythropoïèse est accélérée, les cellules passent dans la circulation avant maturation complète, ce qui entraîne une macrocytose. On trouve finalement dans ce cas une anisocytose très importante avec micro et macrocytose et le VGM peut être normal.

La TGM est évidemment toujours diminuée en raison de l'hypochromie.

Les autres anémies hémolytiques sont dues soit à une anomalie des hématies concernant la structure de la membrane, ou de l'hémoglobine ou, encore, de l'équipement enzymatique, soit à une cause externe aux hématies. Ces dernières sont donc normochromes, normocytaires. Cependant, les anémies hémolytiques sont régénératives et les réticulocytes sont d'une taille supérieure à celle des hématies, on peut donc trouver une légère macrocytose.

2.1.3. Les anémies hémolytiques peuvent être classées selon leur cause.

Hémolyse due à une anomalie d'un des constituants des hématies (anémies hémolytiques corpusculaires) :

- hémoglobine : trouble de la synthèse (thalassémie); anomalie de structure (drépanocytose par exemple) ;
- membrane (microsphérocytose héréditaire par exemple) ;
- équipement enzymatique (déficit en G6PDH par exemple).

Hémolyse due à une cause externe aux hématies (anémies hémolytiques extracorpusculaires) :

- anticorps ;
- parasites ;
- causes mécaniques ;
- substances toxiques, etc.

2.2. Aspects biochimiques

2.2.1. L'hémolyse libère dans le plasma le contenu des hématies. Les LDH 1 et 2 sont majoritaires dans les hématies, ce qui explique l'augmentation de l'activité LDH. La bilirubine non conjuguée est un produit de dégradation de l'hémoglobine massivement libérée lors de l'hémolyse, ce qui explique sa forte concentration plasmatique.

2.2.2. La bilirubine non conjuguée subit une conjugaison hépatique, puis est éliminée dans la bile. La bile est sécrétée dans le duodénum, la bilirubine (stercobiline, urobiline) sera éliminée dans les selles ou les urines (ou recyclée : cycle entérohépatique).

La bilirubine en excès dans le sang peut diffuser vers les tissus périphériques donnant la couleur jaune observée dans les ictères.

2.2.3. La lactate déshydrogénase

2.2.3.1. Les formes multiples d'enzymes catalysent la même réaction. Les différences sont structurales et dues à un codage génétique différent ou à des modifications post-traductionnelles.

Les iso-enzymes sont un cas particulier de formes multiples d'enzymes. Elles sont formées de l'association de monomères codés par des gènes différents, donc de structure primaire différente.

2.2.3.2. La combinaison de quatre sous-unités de deux types différents (M et H) aboutit à cinq iso-enzymes : M4, M3H, M2H2, MH3, H4.

2.2.3.3. Les deux types de sous-unités ont des structures différentes, des pi différents, donc des migrations différentes. Les combinaisons des cinq LDH obtenues permettront d'observer cinq bandes.

2.2.3.4. Équations.

$$\text{pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\textit{Lactate déshydrogénase}} \text{lactate} + \text{NAD}^+$$

$$\alpha\text{-cétobutyrate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\alpha\text{-HBDH}} \alpha\text{-hydroxybutyrate} + \text{NAD}^+$$

Dans les deux réactions, c'est le NADH qui est dosé donc la longueur d'onde choisie est 340 nm.

Le NADH disparaît donc l'absorbance diminue.

3. Applications thérapeutiques

3.1. Prévention et traitement du tétanos.

3.1.1. Une anatoxine est une toxine protéique détoxifiée par le formol et la chaleur douce ; ce procédé conserve le pouvoir antigénique de la molécule.

3.1.2. La bactérie responsable du tétanos est *Clostridium tetani*, bacille à Gram positif, sporulé dans le milieu extérieur et synthétisant une toxine protéique neurotrope. Les spores pénètrent dans l'organisme lors d'une blessure souillée de terre, elles germent et synthétisent la toxine. Les bactéries restent au niveau de la plaie mais la toxine diffuse dans l'organisme. C'est la toxine qui est responsable des signes cliniques, contractures musculaires douloureuses avec spasmes. Elle agit essentiellement sur le système nerveux central (moelle épinière) au niveau des jonctions synaptiques entre des inter-neurones des voies inhibitrices et des motoneurones.

3.1.3. Les gammaglobulines antitétaniques se fixent sur les molécules de toxine libres et les neutralisent. Elles sont sans action sur les molécules toxiques déjà fixées au niveau des synapses : il faut donc les injecter très vite avant que la toxine se fixe sur sa cible.

3.2. Vaccination *anti-Haemophilus influenzae*

3.2.1. La capsule d'*Haemophilus influenzae* est de nature polyosidique.

La capsule permet, dans un premier temps, à la bactérie d'échapper à la phagocytose et donc de se multiplier plus facilement. Elle lui permet également de se fixer aux tissus. Diverses protéases synthétisées par la bactérie peuvent être considérées comme des facteurs de virulence.

D'autres bactéries capsulées sont responsables de méningites chez l'enfant : *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Streptococcus* B, *Escherichia coli* K1.

3.2.2. Dans le cas de la méningite à *Haemophilus influenzae*, le LCR sera trouble en raison de l'afflux de leucocytes car *Haemophilus* est une bactérie pyogène (souvent plus de 500 GB/mm^3).

3.2.3. À partir du LCR, on recherche les antigènes solubles spécifiques (antigène polyosidique b) par une technique d'agglutination sur lame de particules de latex sensibilisées par des anticorps spécifiques de l'antigène recherché. Un témoin est réalisé à l'aide de particules de latex non sensibilisées pour éliminer les agglutinations non spécifiques.

3.2.4. Le milieu d'isolement utilisé est la gélose chocolat (gélose à l'hémoglobine) enrichie par un mélange de divers vitamines et facteurs de croissance. L'incubation se fait à 37 °C sous 10 % de CO_2.

3.2.5. *Haemophilus* est un coccobacille à Gram négatif ne cultivant pas sur milieu ordinaire.

H. influenzae exige les facteurs X (hémine) et V (NAD) pour se développer.

3.2.6. Un disque de buvard imprégné d'une céphalosporine chromogène est utilisé pour rechercher rapidement la présence d'une β-lactamase. Une parcelle de colonie est déposée sur le disque humidifié et l'apparition d'une coloration, due à la libération du chromogène par l'action de la β-lactamase sur la céphalosporine, peut être observée.

Une technique similaire utilise une β-lactamine associée à un indicateur de pH : l'enzyme libère de l'acide penicilloïque et l'indicateur de pH change de couleur.

3.3. Vaccination anti-bilharziose

3.3.1. Les parasites responsables des bilharzioses sont des trématodes du genre *Schistosoma*.

3.3.2. La contamination s'effectue par voie transcutanée. La larve (furcocercaire) libre dans l'eau traverse la peau et migre dans l'organisme.

3.3.3. Des œufs de *Schistosoma haematobium* peuvent être retrouvés dans l'urine. La totalité des urines est recueillie et centrifugée. Le culot est observé entre lame et lamelle pour mettre en évidence les œufs.

4. Outil de diagnostic

4.1. Les anticorps monoclonaux et la différenciation cellulaire

4.1.1. Un anticorps monoclonal est un anticorps sécrété par un clone de plasmocyte. Il est spécifique d'un épitope antigénique.

4.1.2. Application à l'étude de l'érythropoïèse

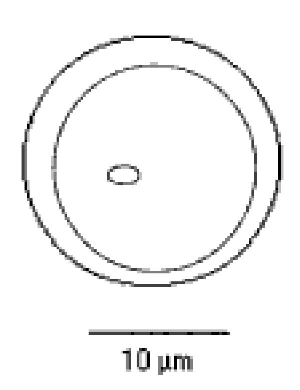
4.1.2.1. Pour identifier les BFU E par immunofluorescence directe, on utilise un conjugué anti-CD35 fluorescent. Ce conjugué, mis en présence des

cellules à identifier, se fixe uniquement sur les BFU E (seules cellules de la lignée érythroblastique à posséder cet antigène membranaire) qui deviennent alors fluorescentes.

4.1.2.2. Les critères d'identification de ces cellules sur frottis coloré au MGG sont :

– la taille de la cellule ;
– le rapport nucléoplasmique ;
– la forme du noyau ;
– la présence ou l'absence de nucléoles ;
– la structure de la chromatine ;
– l'affinité tinctoriale du cytoplasme ;
– l'absence de granulations.

4.1.2.3. Schéma d'un pro-érythroblaste :



4.1.3. Étude de la différenciation des cellules endothéliales

4.1.3.1. Intérêt de ces différents composés :

– le sérum de veau fœtal contient beaucoup de facteurs de croissance pour les cellules endothéliales ainsi qu'une activité anti-trypsine (repiquage) ;
– la glutamine est à la fois un apport nutritionnel et un apport d'azote ;
– la pénicilline et la streptomycine sont deux antibiotiques dont le rôle est d'inhiber les bactéries.

4.1.3.2. Le facteur de Willebrand est indispensable à l'adhésion des plaquettes aux microfibrilles mises à nu lors de la lésion. Le facteur de Willebrand étant libéré par les cellules endothéliales lésées, les plaquettes ne peuvent adhérer aux microfibrilles que localement, au niveau de la lésion.

4.2. Sérodiagnostic de l'infection par le VIH

4.2.1. Électrophorèse

4.2.1.1. Dans le cas de l'électrophorèse de zone (hors équilibre), la mobilité électrophorétique est fonction de la charge globale de la protéine.

La mobilité électrophorétique sera inversement proportionnelle à la masse moléculaire (en liaison avec la porosité du support).

L'électroendosmose sera un frein à la mobilité électrophorétique apparente si les protéines sont chargées négativement (le contraire si elles sont chargées positivement).

Le contre-courant d'évaporation (rhéophorèse) dû à l'effet Joule est favorable au début de l'électrophorèse, mais défavorable ensuite.

4.2.1.2. Les échantillons protéiques subissent un chauffage (dénaturant), un traitement au sodium dodécyl sulfate (surfactant anionique) et au 2-mercapto-éthanol qui va permettre la formation de micelles ayant toutes la même densité de charge. La séparation s'effectue par tamisage moléculaire sur les pores calibrés du support acrylamide. Le tableau montre par ailleurs que les autres supports présentent des courants d'électroendosmose et de rhéophorèse importants qui freinent l'électrophorèse et sont peu séparateurs des masses moléculaires.

4.2.2. Détection des anticorps sériques anti-VIH 1 par immuno-empreinte

4.2.2.1. Il s'agit d'une technique immuno-enzymatique (EIA) ou plus précisément une technique ELISA indirecte.

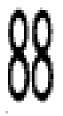
Principe :

– première phase (étape 2) : lors de l'incubation, les anticorps sériques forment un immuncomplexe avec les antigènes, représentés par les protéines virales fixées sur les bandelettes ;
– deuxième phase (étape 4) : le conjugué, anti-IgG – enzyme, ajouté se fixe sur les fragment Fc des anticorps sériques (de classe IgG) ;
– troisième phase (étape 6) : l'addition du substrat de l'enzyme révèle la fixation du conjugué, donc la présence des anticorps sériques spécifiques, par apparition d'un produit coloré.

4.2.2.2. Les lavages réalisés à l'étape 3 éliminent les composés du sérum non fixés sur les antigènes viraux, ceux de l'étape 5 éliminent le conjugué anti-IgG–enzyme en excès, ceux de l'étape 7 éliminent l'excès de substrat.

4.2.2.3. La réaction est réalisée en parallèle sur un sérum de contrôle positif et un sérum de contrôle négatif.

Le sérum de contrôle négatif permet de valider la spécificité de la réaction (élimination de faux positifs). Le sérum de contrôle positif permet, d'une part, de vérifier la qualité des réactifs (élimination des faux négatifs) et, d'autre part, d'interpréter les résultats par comparaison des bandes colorées obtenues avec l'échantillon à celles du sérum de contrôle positif.

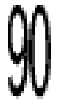




TECHNOLOGIES D'ANALYSE BIOMÉDICALE

Technologies d'analyse biomédicale

* Dans cet ouvrage, les pages comportant les corrigés sont repérées par la présence d'une bande grisée en marge.



TECHNOLOGIES D'ANALYSE MÉDICALE 1995

(corrigé pp. 121-131)

Biochimie

1. Clairance de la créatinine

Préciser le comportement du rein vis-à-vis de la créatinine.

Calculer la clairance de la créatinine en $mL.s^{-1}$ pour un patient adulte avec les données suivantes :

– concentration plasmatique : 185 $\mu mol.L^{-1}$;

– concentration urinaire : 11,5 $mmol.L^{-1}$;

– diurèse : 1,4 L.

Interpréter le résultat obtenu.

Donnée : valeur normale de la clairance de la créatinine : 2 $mL.s^{-1}$

2. Citer les différentes catégories de lipides sériques (formules non demandées).

3. À l'aide d'un schéma convenablement annoté, donner la structure générale d'une lipoprotéine. Justifier la position des différentes molécules dans cette structure.

4. La glucose-6-phosphate déshydrogénase est une enzyme érythrocytaire couramment dosée.

Indiquer :

– la réaction catalysée par cette enzyme (formules non demandées) ;

– le nom de la voie métabolique concernée ;

– la nature de la préparation sur laquelle est effectué le dosage.

5. Présenter le mécanisme d'un transport actif transmembranaire.

6. On veut doser l'albumine sérique par la méthode au vert de bromocrésol à pH 4,2.

À l'aide des données ci-dessous, proposer un protocole permettant de réaliser une gamme d'étalonnage.

Réactifs : – solution étalon d'albumine à 50 $g.L^{-1}$

– réactif de coloration :

vert de bromocrésol	0,14 $g.L^{-1}$
tampon succinate pH 4,2	75 $mmol.L^{-1}$
brij 35	7 $mL.L^{-1}$

Dosage : – E μL de solution étalon diluée

– (200 – E) μL d'eau physiologique

– 5 mL de réactif de coloration

Limite de linéarité de la méthode : 500 μg d'albumine par tube.

7. Donner l'allure d'un enregistrement densitométrique d'un protéinogramme de sérum normal réalisé à pH 8,6 sur acétate de cellulose. Préciser la position du dépôt, des électrodes et la nature des différents pics.

Donnée : le pi des protéines sériques est inférieur ou égal à 7.

8. Sécurité. Donner la signification des symboles (A, B et C) correspondant aux dangers présentés par les substances ou les préparations utilisées au laboratoire.








Symbole A　　Symbole B　　Symbole C

Microbiologie

9. Quels sont les critères utilisés usuellement pour identifier le genre *Candida* et l'espèce *Candida albicans*. Présenter les méthodologies mises en œuvre.

10. *Clostridium tetani* est une bactérie sporulée.

10.1. Indiquer les principales propriétés physico-chimiques de la spore bactérienne.

10.2. Présenter les étapes du processus infectieux conduisant au tétanos.

11. Citer les critères cytobactériologiques de l'infection urinaire en précisant si possible les valeurs limites.

12. Pour orienter l'identification d'une bactérie Gram négatif, on pratique le test de l'oxydase. Il se révèle négatif.

12.1. Indiquer le principe de la réaction réalisée et l'aspect observé dans le cas présenté.

12.2. Ce test permet-il de prévoir le type respiratoire de la bactérie ? Justifier la réponse par des exemples.

13. Deux milieux sont ensemencés pour l'étude de la voie d'attaque du glucose et l'un d'eux est recouvert de paraffine.

Préciser les caractéristiques générales de ces milieux. Schématiser les différents résultats pouvant être obtenus après 24 heures d'incubation. Citer un exemple d'espèce bactérienne correspondant à chacun des cas envisagés.

14. L'antibiogramme d'une souche d'*Escherichia coli* isolée d'une suppuration en milieu hospitalier a montré une résistance à l'ampicilline et une sensibilité à l'association amoxicilline–acide clavulanique.

Interpréter ces résultats.

15. L'herpès.

15.1. Préciser les localisations possibles de cette infection.

15.2. Présenter une méthode de mise en évidence du virus.

16. Présenter la méthode utilisée au laboratoire de parasitologie pour le diagnostic de l'anguillulose.

Hématologie

17. Définir l'éosinophilie et citer deux types de causes possibles.

18. Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine d'un patient sont les suivants :

– Hémoglobine A1 : 20 % ;

– Hémoglobine A2 : 6 % ;

– Hémoglobine F : 74 %.

Commenter ces résultats. Indiquer les principales anomalies érythrocytaires observées sur le frottis sanguin coloré par la méthode de May-Grunwald Giemsa qui accompagnent généralement ce type de pathologie.

19. Lors d'examens d'hémostase réalisés chez deux patients : Monsieur X et Madame Y, on réalise un temps de céphaline activé (TCA) puis, comme examen complémentaire, le TCA du mélange de plasma du patient avec un plasma normal témoin.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Patient	M. X	Mme Y	Témoin
TCA du patient (en secondes)	42	45	31
TCA du mélange patient + témoin (en secondes)	41	32	

Conclure sur les résultats obtenus pour les deux patients.

20. Quelle est l'action de l'urokinase dans l'hémostase ?

21. Sur quel aspect cytologique médullaire repose le diagnostic de la maladie de Kahler ?

Une étude complémentaire des protéines sériques est nécessaire. Citer trois des analyses à réaliser et préciser le résultat obtenu dans chacune d'elles.

22. Une carence importante en vitamine B12 peut provoquer une anémie avec mégaloblastose médullaire.

Caractériser les mégaloblastes du point de vue cytologique et physiopathologique.

23. Citer la composition qualitative d'un des fixateurs les plus utilisés en anatomopathologie.

24. Indiquer deux précautions à respecter dans la mise en œuvre de la fixation en anatomopathologie.

Immunologie

25. Préciser le type de réaction antigène-anticorps correspondant au dosage des antistreptodornases d'un sérum.

Citer les différents réactifs employés pour ce dosage et indiquer leur rôle.

26. Présenter le principe général de deux réactions immunologiques d'agglutination passive appliquées au diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde.

Quelle est la nature de l'anticorps généralement recherché dans cette pathologie ?

27. Indiquer les cellules et les molécules directement impliquées dans la présentation et la reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes T (illustrer par un schéma).

28. Présenter sous forme d'un schéma annoté la recherche des anticorps antitoxoplasmiques par une méthode indirecte en immunofluorescence.

Qu'apporte en plus le test de Remington ?

29. Donner un exemple d'hypersensibilité dont le mécanisme implique une réponse exclusivement cellulaire.

30. Quelles sont les cellules spécifiques intervenant dans la réponse exclusivement cellulaire de l'hypersensibilité ?

TECHNOLOGIES D'ANALYSE BIOMÉDICALE 1996

(corrigé pp. 131-142)

Microbiologie

1. Présenter les mécanismes des diarrhées entéro-invasives. Indiquer les principales espèces bactériennes en cause.

2. Indiquer une technique de mise en évidence de Chlamydia trachomatis dans un prélèvement génital et préciser les conditions de prélèvement que celle-ci impose.

3. Citer quatre types d'éléments figurés qui, observés sur un culot urinaire, orientent vers une infection urinaire haute (pyélonéphrite).

4. Donner le principe, la technique en macrométhode et l'intérêt du test oNPG.

5. Quels sont les facteurs qui conditionnent le pouvoir pathogène des bactéries anaérobies de la flore de Veillon ?

Citer deux exemples de bactéries appartenant à cette flore et deux exemples de localisation d'infections pour lesquelles elle est impliquée.

6. Qu'appelle-t-on « résistance naturelle » des bactéries aux antibiotiques ?

D'une manière générale quels sont les mécanismes biochimiques du phénomène de résistance des bactéries aux antibiotiques ?

7. Quelles sont les conditions d'isolement d'un *Aspergillus* à partir d'une expectoration ?

Indiquer les critères d'identification d'un *Aspergillus*.

8. Le virus de la poliomyélite est un virus nu, à ARN positif et à symétrie cubique.

8.1. Décrire brièvement les étapes de sa multiplication.

8.2. Pourquoi est-il particulièrement résistant dans le milieu extérieur ?

9. Indiquer les principales étapes d'un diagnostic viral direct, par culture cellulaire, à partir d'un produit pathologique.

10. Donner un ordre de grandeur de la taille des éléments parasitaires suivants :

– kyste d'*Entamoeba coli* ;

– œuf de *Schistosoma haematobium* ;

– trophozoïte de *Plasmodium falciparum* ;

– *Enterobius vermicularis* (oxyure) femelle ;

– *Taenia saginata*.

Immunologie – Sérologie

11. Citer six systèmes d'antigènes érythrocytaires humains.

12. Donner le principe du diagnostic de la grossesse par inhibition de l'agglutination sous forme d'un schéma légendé faisant apparaître la nature de la substance recherchée ainsi que celle des réactifs utilisés.

13. La réaction de Paul-Bunnell-Davidsohn, mise en œuvre pour le diagnostic de la mononucléose infectieuse, a donné les aspects macroscopiques reproduits ci-dessous.

– Présenter les résultats sous forme d'un tableau.

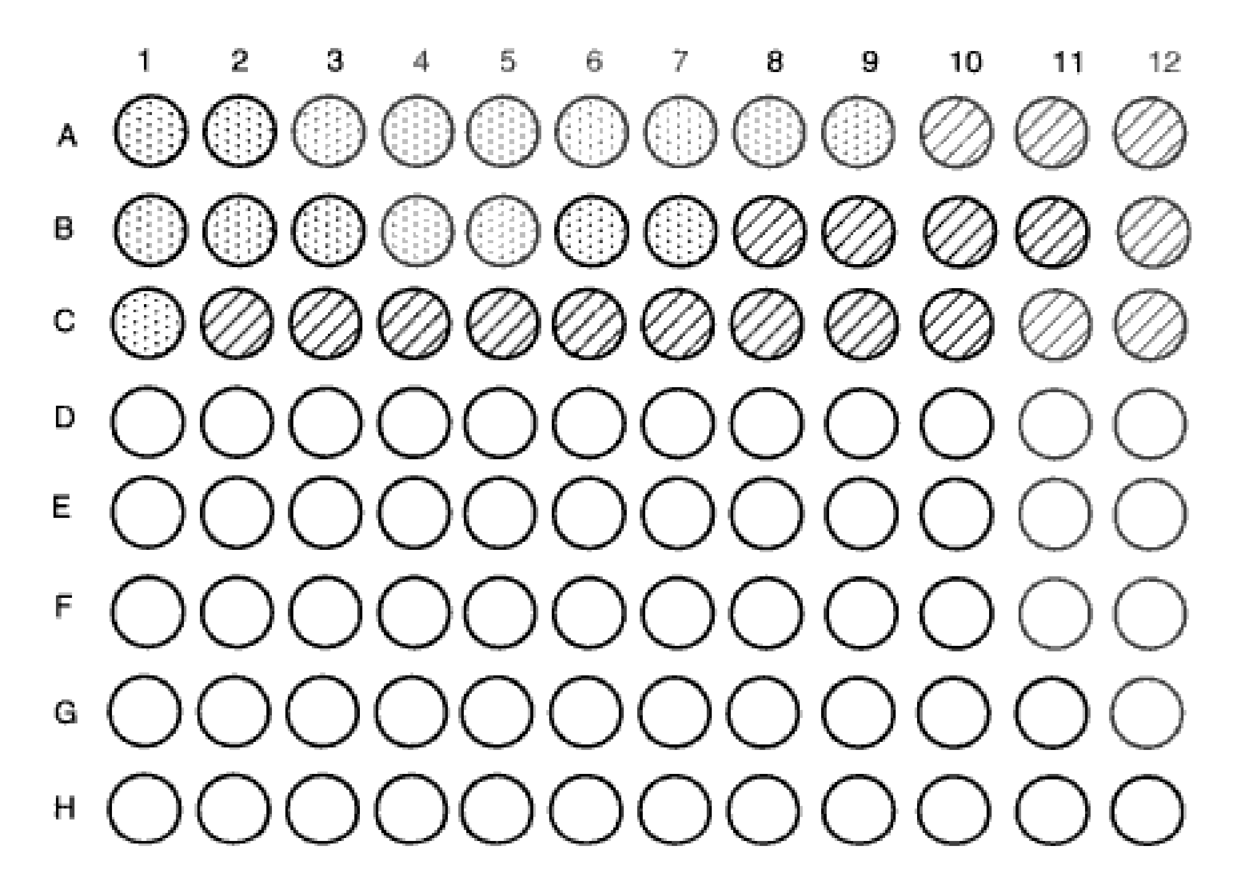
– Donner une conclusion et une interprétation de ce sérodiagnostic.

14. Citer les principales étapes de la préparation des anticorps monoclonaux.

15. Définir le système Gm des immunoglobulines humaines et présenter ses caractéristiques.

16. Présenter l'origine et le rôle de l'interleukine 2 dans l'organisme humain.

Diagnostic de la mononucléose infectieuse
Réaction de Paul-Bunnell-Davidsohn en microméthode



Cupules	1 à 11	: dilution du sérum X_1 du 1/15 au 1/15 360
Cupule	12	: témoin globules rouges de mouton
Rangée	A	: sérum X_1 dilué en eau physiologique
Rangée	B	: surnageant de sérum X_1 traité par des antigènes rein de cobaye
Rangée	C	: surnageant de sérum X_1 traité par des antigènes globules rouges de bœuf

Valeur de référence ou seuil de positivité : 1/120

Biochimie

17. À l'aide d'un schéma légendé, expliquer le fonctionnement de la synapse neuromusculaire.

18. Dosage de la créatine kinase sérique par test UV à 340 nm.

La détermination cinétique de l'activité de la créatine kinase met en jeu trois réactions.

$$\text{Créatine} + \text{ATP} \xleftrightarrow{CK} \text{Créatine-P} + \text{ADP}$$

$$\text{Gluconate 6-P} + \text{NADPH} + H^+ \xleftrightarrow{G6\,PDH} \text{Glucose 6-P} + \text{NADP}^+ + H_2O$$

$$\text{ATP} + \text{Glucose} \xleftrightarrow{GK} \text{Glucose 6-P} + \text{ADP}$$

Coordonner ces trois réactions en les écrivant dans le sens de leur déroulement au cours du dosage. En déduire le sens de la variation de l'absorbance à la longueur d'onde du dosage.

19. Le dosage de la créatine kinase est réalisé selon le protocole suivant.

Dans une cuve de trajet optique l = 1 cm, introduire :

– tampon + enzymes + coenzymes V mL
– échantillon (sérum) E mL

Mélanger, placer 5 minutes à 37 °C.

Ajouter :

– créatine-P S mL

Mélanger, attendre 2 minutes.

Mesurer la variation moyenne d'absorbance par minute, à 340 nm (ΔA/min).

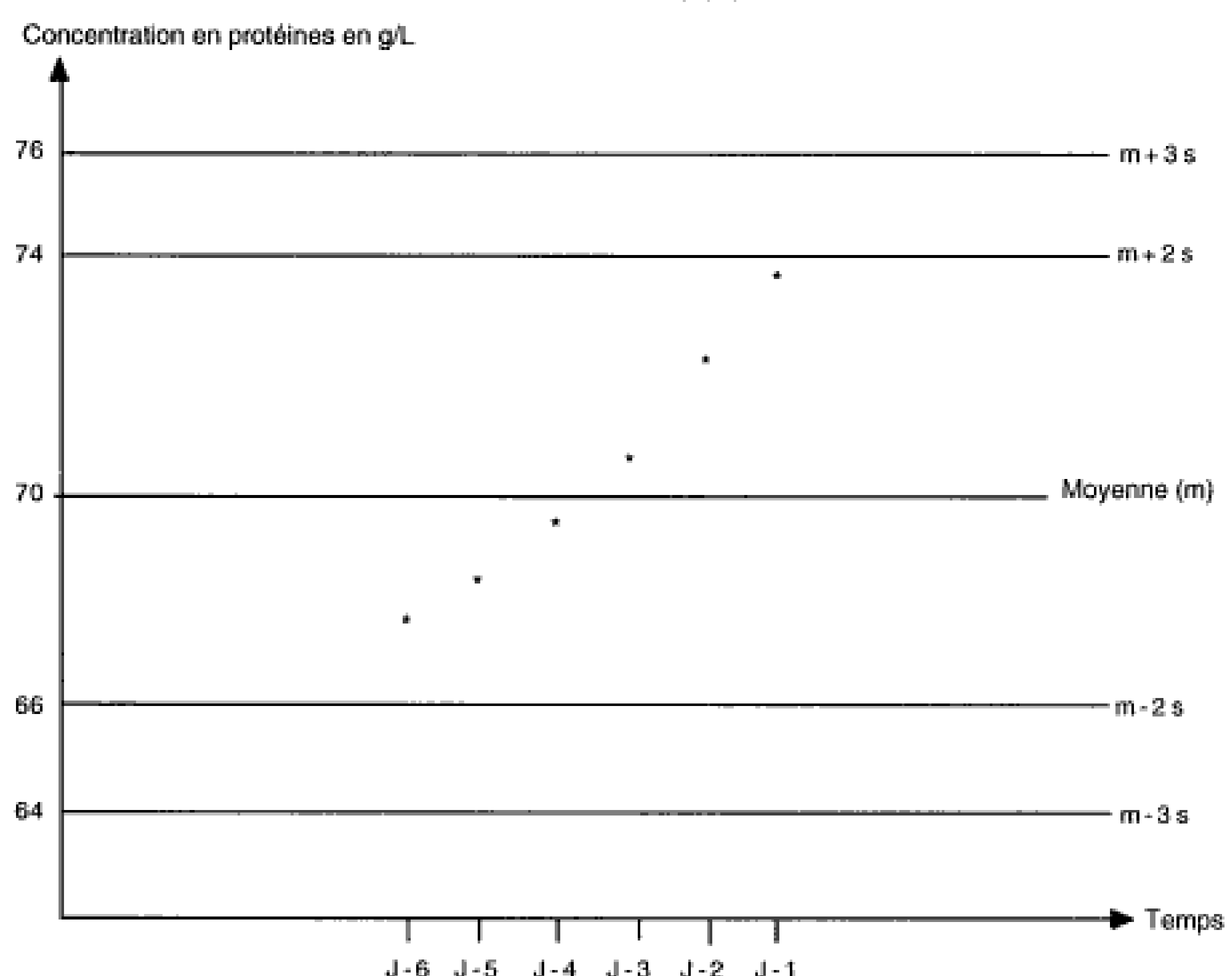
– Établir la formule littérale donnant la concentration d'activité catalytique de l'échantillon en µKat.L^{-1} en fonction de ε_{NADPH} à 340 nm, l, V, E, S, ΔA/min.

Donnée : ε_{NADPH} à 340 nm exprimé en $m^2.mol^{-1}$.

20. Dans le cadre du dosage d'une enzyme sérique, quelles mesures de sécurité faut-il respecter au cours de la manipulation ?

21. Le contrôle journalier pour le dosage des protéines est réalisé à l'aide d'un sérum C.

Carte de contrôle



Le résultat obtenu le jour J est : 74,2 $g.L^{-1}$. Les résultats obtenus lors du premier mois d'utilisation du sérum C sont :

moyenne = 70,0 $g.L^{-1}$;

s = écart type = 2,0 $g.L^{-1}$.

Les résultats obtenus pendant les 6 jours précédant le jour J figurent sur la carte de contrôle.

Interpréter l'évolution des six derniers jours.

Le résultat obtenu le jour J pour le sérum C permet-il de valider la série de dosage dont il faisait partie ? Justifier la réponse.

22. Préciser et justifier les conditions dans lesquelles un échantillon sanguin doit être prélevé et traité en vue de la détermination de la glycémie.

23. Définir les termes suivants :
– cholestase ;
– insuffisance hépatocellulaire ;
– cytolyse hépatique.

Pour chacun des syndromes définis ci-dessus, citer un paramètre biochimique plasmatique modifié et indiquer, en le justifiant, le sens de variation correspondant.

24. Donner le mode d'action de l'hormone antidiurétique (ADH) dans la régulation de l'élimination rénale de l'eau.

Hématologie – Histologie – Cytologie

25. – Citer une coloration trichrome utilisée couramment en histologie.
– Préciser le nom et le rôle des colorants employés.
– Pourquoi doit-on réhydrater les coupes contenant de la paraffine avant l'étape de coloration ? Expliquer comment s'effectue cette préparation à la coloration.

26. – Définir le terme de myélémie.
– Faire le schéma annoté d'un promyélocyte (en précisant les couleurs).

27. Donner un exemple d'hémogramme permettant d'orienter le diagnostic vers une leucémie lymphoïde chronique.

28. Un automate affiche le résultat suivant : 50.10^9 thrombocytes par litre de sang. Le technicien décide de vérifier ce résultat avant de le rendre.

Pourquoi et de quelle façon cette vérification est-elle faite ?

29. Donner le principe de la détermination de l'activité prothrombinique (temps de Quick).

30. Le suivi d'un traitement aux antivitamines K comprend la détermination de l'activité prothrombinique.
– Pourquoi ce test est-il choisi ?
– Comment exprime-t-on le résultat dans ce contexte ?

TECHNOLOGIES D'ANALYSE BIOMÉDICALE 1997

(corrigé pp. 142-151)

Hématologie – Histologie – Cytologie

1. Pour un patient X, la vitesse de sédimentation (VS) mesurée à la première lecture est de 38.

– Préciser :

- la nature de l'anticoagulant choisi pour le prélèvement de sang destiné à cette mesure ;
- le délai nécessaire pour effectuer la première lecture ;
- à quoi correspond le nombre 38 ;

– Conclure.

2. Pour un patient Y, le nombre de leucocytes donné par un automate est de $12.10^9.L^{-1}$.

L'établissement de la formule leucocytaire de ce patient, sur un frottis sanguin coloré par la technique de May-Grünwald Giemsa, met en évidence 20 % d'érythroblastes. Le technicien effectue alors un calcul pour corriger le nombre de leucocytes donné par l'automate.

– Expliquer pourquoi le nombre de leucocytes doit être corrigé et établir la formule de calcul qui permet cette correction.

– Proposer pour ce patient une présentation de formule leucocytaire donnée en pourcentages et rédiger le bilan leucocytaire du patient Y.

3. Pour un patient Z, le temps de saignement (TS), mesuré par la méthode d'Ivy, est supérieur à 15 minutes et le nombre de plaquettes est de $300.10^9.L^{-1}$.

– Préciser quelle phase de l'hémostase est explorée par le temps de saignement.

– Sachant que, chez ce patient, les résultats des autres tests de contrôle d'hémostase sont normaux, commenter les résultats ci-dessus et proposer une orientation du diagnostic.

4. Un technicien se prépare à réaliser deux tests d'hémostase, à l'aide des trois réactifs suivants :

A = solution de chlorure de calcium ;

B = thromboplastine calcique ;

C = céphaline kaolin.

Identifier la nature de ces deux tests d'hémostase en précisant, pour chacun d'eux, le ou les réactifs à choisir.

5. La carence en fer est la cause d'anémie la plus fréquente.

– Préciser les modifications de l'hémogramme qui orientent le diagnostic vers une anémie par carence en fer.

– Définir la carence en fer et citer l'examen complémentaire qui peut confirmer d'emblée cette orientation du diagnostic.

6. Indiquer dans quel type de cellule et dans quel type de pathologie on rencontre des corps d'Auer.

7. Le protocole opératoire ci-dessous est celui de la coloration de Papanicolaou utilisée en cytologie vaginale.

– Indiquer le but des étapes : 1 à 4 et 18 à 23.

– Justifier la nécessité de ces étapes.

– Indiquer ce que colorent respectivement les colorants des étapes 5, 14 et 17.

1	Alcool à 80 °	30 s	
2	Alcool à 70 °	30 s	
3	Alcool à 50 °	30 s	
4	Eau distillée	30 s	
5	Hématoxyline de Harris	1 à 3 min	
6	Eau distillée	30 s	
7	Solution d'acide chlorhydrique à 0,25 %	Plonger 6 fois	
8	Eau courante	6 min	
9	Eau distillée	30 s	
10	Alcool à 50 °	30 s	
11	Alcool à 70 °	30 s	
12	Alcool à 80 °	30 s	
13	Alcool à 95 °	30 s	
14	Orange G.6	90 s	
15	Alcool à 95 °	30 s	cuvettes individuelles
16	Alcool à 95 °	30 s	cuvettes individuelles
17	EA 50 ou EA 36	90 s	
18	Alcool à 95 °	30 s	
19	Alcool à 95 °	30 s	cuvettes individuelles
20	Alcool à 95 °	30 s	cuvettes individuelles
21	Alcool absolu	30 s	cuvettes individuelles
22	Xylol Alcool	30 s	
23	Xylol	30 s	

Biochimie

8. Définir l'expression « pression oncotique plasmatique ».

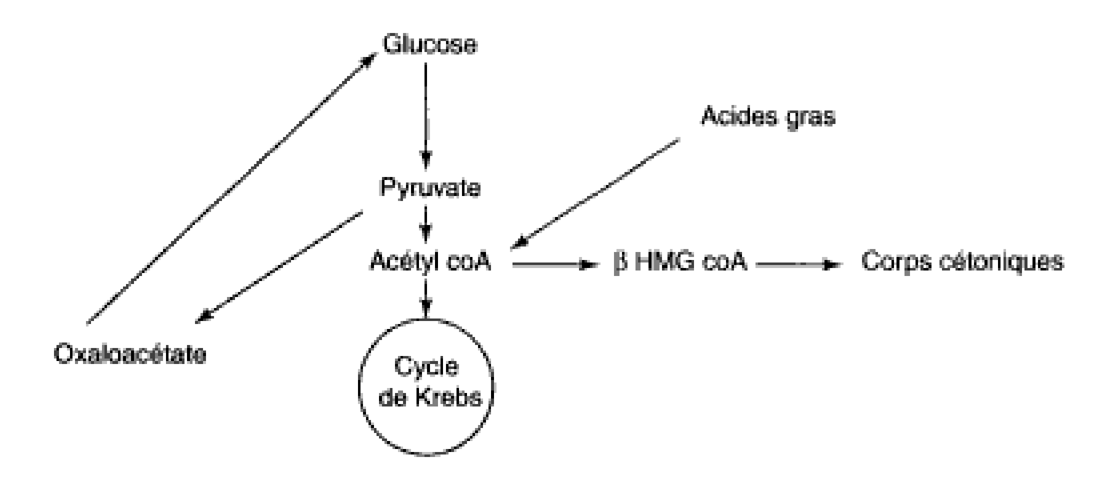
L'abaissement de la pression oncotique plasmatique est susceptible de déclencher l'apparition d'œdèmes.

Expliquer ce phénomène.

9. Préciser le rôle des reins dans l'équilibre acido-basique.

10. Le foie convertit une partie des acides gras en corps cétoniques. Cette production de corps cétoniques augmente lors d'un jeûne glucidique.

À l'aide du schéma ci-dessous, expliquer cette augmentation.



11. Afin de prélever un volume précis de sérum, on utilise une pipette automatique. Préciser les opérations à réaliser et les précautions à prendre.

12. Commenter les résultats suivants, obtenus chez un patient présentant une détresse respiratoire.

	Résultats sanguins	Intervalle de référence	
pH	7,30	7,36 – 7,42	
pCO_2	9	5,0 – 5,9	kPa
pO_2	7	10,4 – 13	kPa
HCO_3^-	40	23 – 27	mmol/L
Na^+	135	135 – 145	mmol/L
K^+	5,2	3,5 – 5,5	mmol/L
Cl^-	82	98 – 108	mmol/L

Citer une méthode de mesure des paramètres suivants : pO_2 ; pCO_2 ; Na^+ ; K^+ ; Cl^-.

La concentration en HCO^{3-} peut être déduite par calcul connaissant le pH et la pCO_2.

Expliquer comment.

13. Dans le cadre de la détermination d'une concentration activité enzymatique, préciser les paramètres à fixer pour un spectrophotomètre programmable.

14. Un coffret pour le dosage sérique par une méthode enzymatique (point final) contient les réactifs suivants :

– cholestérol-estérase ;

– cholestérol-oxydase ;

– peroxydase ;

– chromogène.

Indiquer le principe de ce dosage en précisant les équations des réactions chimiques (sans formules chimiques).

15. La révélation des bandes d'électrophorèse sur acétate de cellulose nécessite l'utilisation d'une solution d'acide acétique à 5 %. Cette solution est préparée à partir d'une solution commerciale concentrée, laquelle est accompagnée de l'étiquette suivante :



R : 10-35 S : 23-26-45

Donner la signification :

– du pictogramme ;

– des lettres R et S.

Immunologie

16. Indiquer la structure schématique d'une molécule HLA de classe I. Préciser la localisation de cette molécule.

17. Avant d'effectuer un sérodiagnostic de rubéole par séroneutralisation (ou séroinhibition) d'hémagglutination, on traite le sérum test par une solution de dextran (ou de kaolin) et une suspension de globules rouges.

Justifier ce traitement.

18. Un patient reçoit de la cyclosporine.

Indiquer l'action de la cyclosporine et dans quelles circonstances ce traitement est nécessaire.

19. Définir une agglutinine irrégulière.

Indiquer trois situations au cours desquelles la formation d'agglutinines irrégulières peut survenir.

20. Expliquer le principe du test de Coombs indirect appliqué à un exemple précis.

Microbiologie

21. Certaines bactéries exigent pour leur croissance une gélose chocolat supplémentée.

– Citer deux exemples de bactéries concernées.

– Quels sont les différents types de facteurs de croissance apportés par ce milieu ?

22. Les milieux d'isolement discriminants et identifiants sont utilisés de plus en plus fréquemment lors de la recherche d'espèces microbiennes précises au sein d'une flore associée complexe.

– Présenter le principe général de ces milieux.

– Donner deux exemples de tels milieux.

23. L'adhésion aux muqueuses est une étape obligatoire du processus infectieux pour la grande majorité des bactéries pathogènes.

Donner deux exemples de structures bactériennes responsables de cette propriété.

24. La recherche des mycobactéries par les méthodes classiques dans un produit d'expectoration nécessite un traitement préalable du prélèvement. Citer et justifier les différentes étapes de ce traitement.

25. La manipulation des mycobactéries nécessite des précautions particulières tant au niveau du personnel qu'au niveau du matériel.

En citer au moins trois.

26. La vaginose bactérienne est en général due à une association de micro-organismes.

– Citer les espèces impliquées.

– Comment peut-on détecter cette pathologie sur frottis coloré ?

– Indiquer d'autres caractéristiques relatives à cette vaginose.

– Quelles sont les conditions de culture du principal micro-organisme responsable ?

27. Les concentrations critiques inférieure (c) et supérieure (C) de l'ampicilline sont respectivement de 4 et 16 $mg.L^{-1}$. Les diamètres d'inhibition mesurés pour ces concentrations sont de 11 et de 17 mm.

– Définir ces deux concentrations.

– Construire l'abaque de lecture de cet antibiotique et l'utiliser pour expliquer l'interprétation d'un antibiogramme.

28. Lors du repiquage d'une culture cellulaire, on effectue une numération de la suspension au bleu Trypan.

– Quel est le rôle de ce produit ? Quel type de cellules doit-on compter ?

– Pour la numération, on a mélangé 0,1 cm^3 de suspension cellulaire et 0,1 cm^3 de bleu Trypan.

On a compté 200 cellules dans 1 mm^3.

Quel volume de milieu neuf doit-on ajouter, avant répartition, à 8 cm^3 de suspension pour obtenir 200 000 cellules par cm^3 ?

29. Comparer, en les justifiant, les deux modes de transmission des virus de l'hépatite A (virus nu) et de l'hépatite B (virus enveloppé).

30. Quelle est la technique la plus utilisée en laboratoire pour effectuer le diagnostic du paludisme ?

Indiquer les principaux critères d'identification des différentes espèces de ce genre.

31. Pour effectuer une analyse mycologique, à quel niveau d'une lésion cutanée doit-on prélever ? Justifier.

32. Certains prélèvements en mycologie nécessitent, en vue de leur observation microscopique, une technique d'éclaircissement.

Indiquer lesquels, ainsi qu'un exemple de réactif utilisé.

TECHNOLOGIES D'ANALYSE BIOMÉDICALE 1998

(corrigé pp. 151-157)

Immunologie

1. Donner la méthodologie d'une technique ELISA type « sandwich » appliquée à la recherche d'un antigène soluble dans un sérum.

2. Le sérodiagnostic de la rubéole

– Dans quel cas est-on conduit à faire la recherche des IgM ?
– Lors d'une réaction d'inhibition d'hémagglutination, le sérum est traité préalablement. Quel est le but de ce traitement ?

3. Que recherche-t-on dans tous les tests présomptifs de la grossesse ?

Pourquoi l'utilisation des anticorps monoclonaux a-t-elle permis une plus grande fiabilité des tests ?

4. Rôle des organes lymphoïdes primaires

Sachant que l'on a réalisé l'ablation néonatale du thymus ou de la bourse de Fabricius chez un poulet, indiquer les caractéristiques des paramètres consignés dans le tableau suivant, à reproduire sur la copie :

(noter : n = situation normale d'un animal non traité
+ = augmentation par rapport à la situation normale
– = diminution par rapport à la situation normale
0 = annulation par rapport à la situation normale)

Effets sur le système immunitaire	Bursectomie	Thymectomie
Taux de lymphocytes circulants		
Plasmocytes		
Taux d'immunoglobulines sériques		
Synthèse d'anticorps spécifiques : – anti-LPS – antitétanique		
Rejet d'autogreffe		

Quel est l'équivalent de la bourse de Fabricius chez l'homme ?

Microbiologie

5. – Décrire les caractères morphologiques de l'espèce *Neisseria meningitidis* après coloration de Gram.

– Citer deux produits pathologiques à partir desquels cette espèce est le plus souvent isolée.

6. – Indiquer la caractéristique structurale fondamentale des mycoplasmes.

– Citer deux espèces de mycoplasmes responsables d'infections génitales humaines.

– Quelle précaution doit-on prendre au moment du prélèvement afin de recueillir ces micro-organismes en abondance ?

7. Un isolement est pratiqué sur gélose CLED à partir d'une urine purulente. On observe une majorité de colonies jaunes opaques. Justifier cet aspect.

On envisage la recherche d'une β-glucuronidase par un test rapide. Donner le principe de ce test et citer une espèce β-glucuronidase +.

8. Dans le cadre de la recherche de mycobactéries, on réalise la coloration fluorescente à l'auramine sur un frottis d'expectoration. L'examen se révèle positif.

– Comment se présente ce résultat ?

– Quelle méthode de coloration de référence doit-on réaliser pour confirmer le résultat précédent ?

9. Une nouvelle génération de tests d'agglutination sur lame permettant l'identification rapide de *Staphylococcus aureus* est commercialisée. Elle permet la mise en évidence de trois composants spécifiques de l'espèce.

– Préciser lesquels et dégager le principe de cette mise en évidence.

– Quel est l'intérêt de ces tests par rapport aux précédents ?

10. La mise en route d'une hémoculture s'effectue classiquement sur deux flacons de milieux.

Présenter les caractéristiques de ces milieux de culture et les règles à respecter lors de l'ensemencement.

11. Les streptocoques présentent vis-à-vis des aminosides une résistance de bas ou de haut niveau.
– Qu'appelle-t-on résistance de bas niveau ? Comment explique-t-on ce phénomène ?
– Qu'appelle-t-on résistance de haut niveau et comment la met-on en évidence au laboratoire ?

12. Citer les moyens de défense de la muqueuse respiratoire en précisant leurs rôles.

13. – Chez les rétrovirus, quelle est la nature du génome présent dans le virion ?
– Présenter les principales étapes de leur cycle de multiplication.

14. – En mycologie, à partir de quels prélèvements peut-on rechercher des dermatophytes ?
– Sur quels milieux peut-on ensemencer ces prélèvements ?
– Dans quelles conditions d'incubation ?

15. Quels éléments caractéristiques permettent de différencier les kystes mûrs d'*Entamoeba histolytica* et *Entamoeba coli* à l'examen microscopique d'une selle colorée au MIF ?

Biochimie

16. – Écrire la relation reliant la vitesse initiale et la concentration en substrat dans le cas d'une réaction catalysée par une enzyme michaélienne.
– Quelle condition doit remplir la concentration en substrat pour une détermination de concentration d'activité catalytique ? Justifier la réponse.
– Dans quelle condition de concentration en substrat la vitesse initiale peut-elle être considérée comme proportionnelle à cette concentration en substrat ? Justifier la réponse.

17. L'ictère, chez le nouveau-né, peut être dû à une immaturité hépatique ou à une incompatibilité immunitaire fœto-maternelle.
– Quelle est la molécule responsable d'un ictère ? Sous quelles formes peut-on la trouver dans le plasma ?
– Dans chaque cas évoqué ci-dessus, quelle est la forme rencontrée ? Justifier les réponses.

18. Après centrifugation de prélèvements sanguins on peut observer des surnageants lactescents, ictériques ou hémolysés.
– Définir ces termes.
– De tels échantillons sont-ils forcément pathologiques ? Justifier la réponse.
– Indiquer, dans chaque cas, les précautions éventuelles à prendre lors de l'analyse de tels échantillons.

Les questions 19 à 21 portent sur l'extrait de la notice d'un coffret de réactifs pour le dosage des phospholipides

Détermination enzymatique des phospholipides
Phospholipides enzymatiques PAP 150 (bioMérieux réf. 61491)

* *Principe*

Les phospholipides (lécithine, lysolécithine et sphingomyéline) sont hydrolysés par la phospholipase D.

La choline libre est dosée par la réaction de Trinder.

$$\text{lipides} + H_2O \xrightarrow{\text{Phospholipase D}} \text{choline} + \text{acide phosphatidique, acide lysophosphatidique, N-acylsphingosylphosphate}$$

$$\text{choline} + 2\ O_2 \xrightarrow{\text{Choline oxydase}} \text{bétaine} + 2\ H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{phénol} + \text{amino-4-antipyrine} \xrightarrow{\text{Peroxydase}} \text{quinone-imine} + 4\ H_2O$$

* *Valeurs usuelles dans le sérum :* 1,6 à 2,5 g/L ou 2,08 à 3,22 mmol/L

* *Échantillon :* sérum ou plasma. Les échantillons sont stables au moins quinze jours à 2-8 °C.

* *Mode opératoire*

Longueur d'onde : 505 nm (492-546 nm). Zéro de l'appareil : blanc réactif

Cuve de 1 cm d'épaisseur

	Blanc réactif	Étalon	Dosage
Étalon (réactif 1)	–	10 µL	–
Échantillon	–	–	10 µL
Solution de travail	1 mL	1 mL	1 mL

Mélanger, incuber 10 minutes à 37 °C.

Stabilité de la coloration : 1 heure   Linéarité : 0 à 10 mmol/L

19. Présenter la formule générale d'un glycérophospholipide.

Indiquer sur cette formule le site d'action de la phospholipase D.

20. Quelle est la composition qualitative de la solution de travail ?

21. De quel type de dosage enzymatique de substrat s'agit-il ? Justifier la réponse.

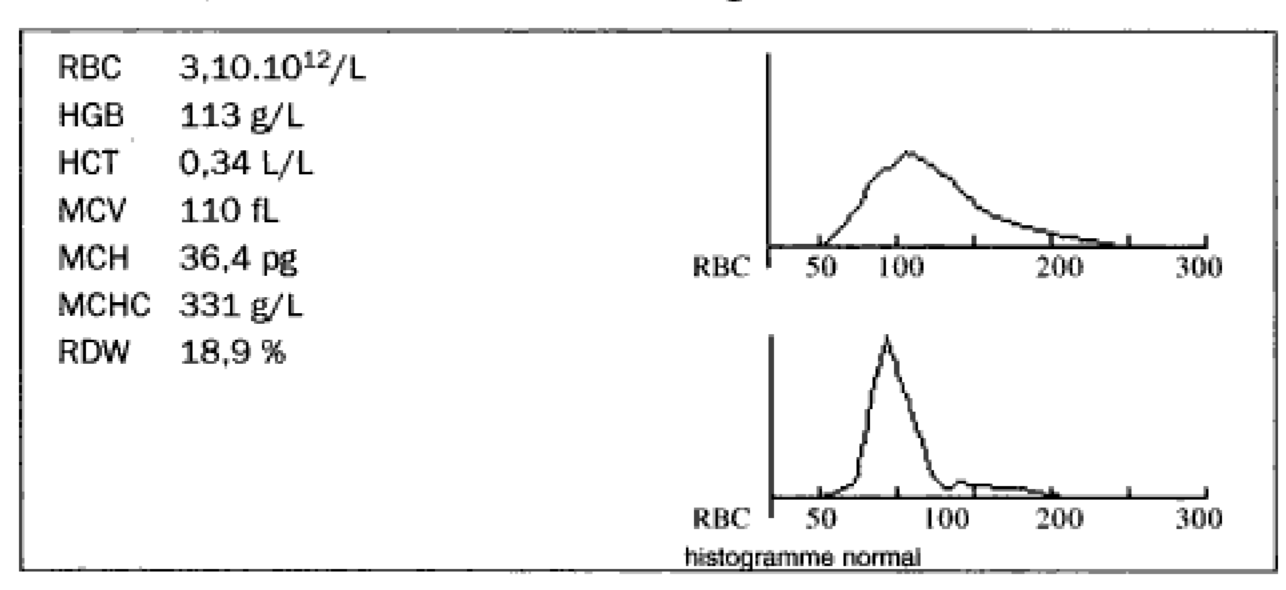
22. Quel est l'ordre de grandeur de l'absorbance si la limite de linéarité est atteinte ?

Donnée : Coefficient d'absorbance molaire de la quinone-imine à 505 nm = 1 360 $m^2.mol^{-1}$.

23. Comment sont véhiculés les phospholipides dans le plasma ? Pourquoi ?

Hématologie

24. Commenter l'histogramme de répartition des hématies et le tableau des résultats fournis par un automate concernant le sang d'un homme adulte.



RBC	$3{,}10.10^{12}$/L
HGB	113 g/L
HCT	0,34 L/L
MCV	110 fL
MCH	36,4 pg
MCHC	331 g/L
RDW	18,9 %

Justifier les réponses.

25. Définir « anémie régénérative ».

Sur quel(s) examen(s) est fondé le diagnostic ? Préciser les résultats attendus.

26. Définir l'expression α^+ thalassémie et β^0 thalassémie. Indiquer quelle est la plus grave de ces pathologies. Justifier la réponse.

27. Quelle est la nature des corpuscules de Heinz, des corps de Jolly ?

28. Sur quel argument cytologique se définit un syndrome mononucléosique ?

Quelle en est la cause la plus fréquente ?

29. Définir l'endomitose. Dans quelle lignée cellulaire observe-t-on ce phénomène ?

30. Citer les facteurs intervenant dans la voie extrinsèque de la coagulation.

Indiquer le test permettant l'exploration de cette voie et les réactifs nécessaires à sa réalisation.

31. Le phénomène de coagulation intravasculaire disséminée se nomme aussi syndrome de consommation. Justifier cette appellation.

32. Quelles sont les conséquences d'une avitaminose K sur le temps de saignement et le temps de céphaline activée ? Justifier la réponse.

TECHNOLOGIES D'ANALYSE BIOMÉDICALE 1999

(corrigé pp. 158-167)

Biochimie

1. Protéinogramme.

L'électrophorèse sur gel d'agarose à pH 8,6 des protéines sériques chez un sujet présentant un syndrome inflammatoire aigu a donné les résultats suivants :

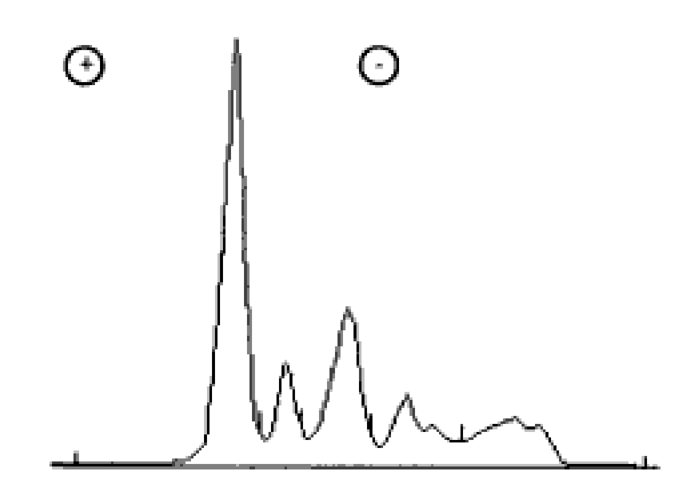
		Intervalle de référence
Protides totaux	63,0 $g.L^{-1}$	65 - 80 $g.L^{-1}$
Albumine	42,2 %	52 - 65 %
Globulines alpha 1	7,1 %	2 - 4 %
Globulines alpha 2	23,7 %	10 - 14 %
Globulines bêta	9,0 %	6 - 13 %
Globulines gamma	18,0 %	10 - 19 %

1.1. Reproduire et annoter l'électrophorégramme (document ci-dessous)

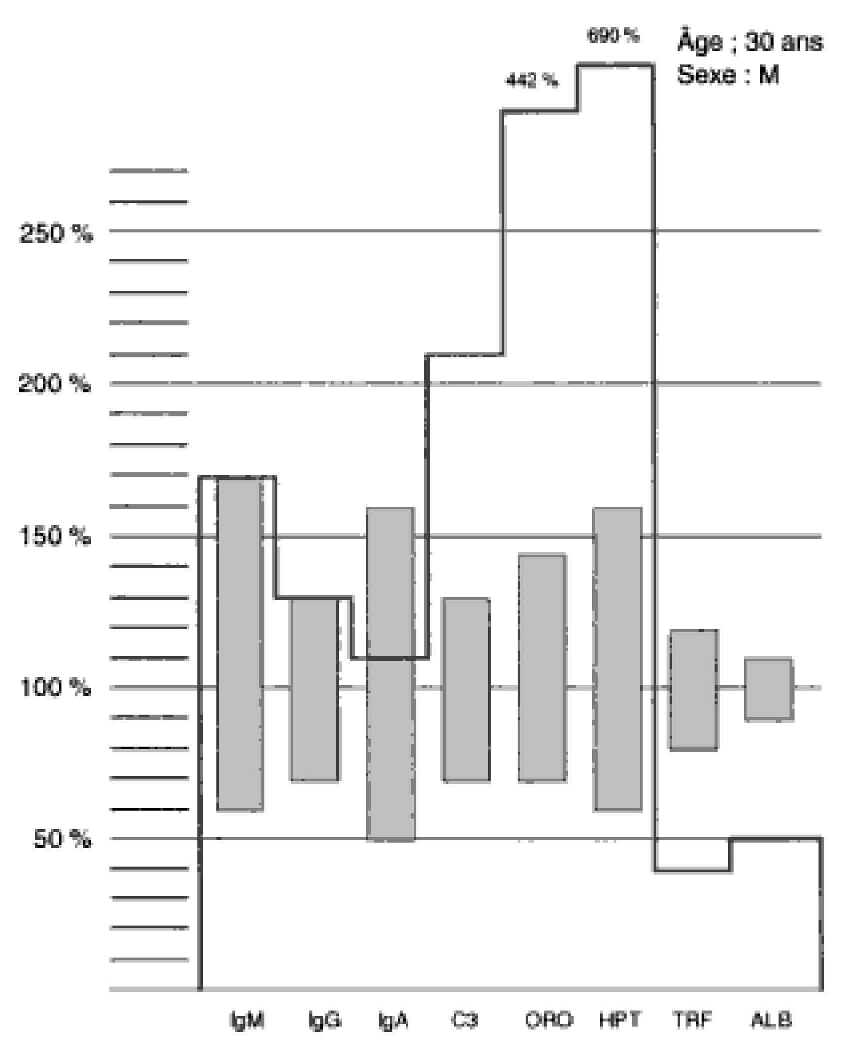
Préciser la zone du dépôt, le sens de migration. Justifier les réponses.

1.2. Identifier les différentes fractions protéiques séparées.

1.3. Déterminer les concentrations de l'albumine et des globulines, exprimées en $g.L^{-1}$.



1.4. Comparer l'électrophorégramme et le profil protéique (ci-dessous) réalisé avec le sérum du patient précédent.



2. pHi et chromatographie sur résine échangeuse d'ions.

   2.1. Définir le pHi d'un acide aminé.

   2.2. Écrire les équilibres d'ionisation de la cystéine en fonction du pH. Calculer le pHi de la cystéine.

   Données : les pK des groupements ionisables de la cystéine sont, à 25 °C :

   $pK_1(\alpha\ COOH) = 1{,}71$ $pK_2(\alpha\ NH_2) = 10{,}78$ $pK_R(-SH) = 8{,}33$

   2.3. Un mélange de trois acides aminés : cystéine, lysine (pHi = 9,74), acide glutamique (pHi = 3,22), réalisé en milieu tampon pH 2,0, est déposé sur une colonne de résine polystyrénique substituée par des groupements sulfonates ($-SO_3^-$). L'élution est effectuée avec un gradient de pH de 2,0 à 10,0.

   Indiquer et justifier l'ordre d'élution des trois acides aminés.

3. Indiquer la nature du prélèvement sanguin et les conditions à respecter en vue de l'analyse du pH et des gaz du sang.

4. Qu'est-ce qu'un canal membranaire voltage-dépendant ? Donner un exemple.

5. Le cholestérol est le précurseur des sels biliaires et des hormones stéroïdes.

5.1. Indiquer le lieu de synthèse des sels biliaires. Préciser leur rôle dans la digestion et leur lieu d'action.

5.2. Citer deux hormones stéroïdes. Préciser leur(s) rôle(s) et l'organe qui les synthétise.

6. Le tableau ci-dessous indique des valeurs de référence plasmatiques et urinaires de différents composés.

Expliquer, pour chacun des composés dont l'élimination urinaire (dU) est proche de zéro, les causes de cette absence dans une urine normale.

Quel est le comportement du rein vis-à-vis de l'ammoniac ?

Constituants	**Plasma sanguin**	**dU**
Albumine	36 - 50 $g.L^{-1}$	# 0
Triglycérides	1,0 - 1,5 $mmol.L^{-1}$	# 0
Glucose	3,8 - 5,1 $mmol.L^{-1}$	# 0
Cholestérol	5,1 - 7,2 $mmol.L^{-1}$	# 0
Bilirubine	6 - 24 $\mu mol.L^{-1}$	# 0
HCO_3^-	22 - 26 $mmol.L^{-1}$	# 0
NH_4^+	20 - 60 $\mu mol.L^{-1}$	20 - 70 $mmol.L^{-1}$

Microbiologie

7. *Campylobacter jejuni* est une espèce bactérienne responsable d'infections intestinales.

7.1. Quelles sont les caractéristiques microscopiques de cette bactérie ?

7.2. À partir d'un exemple de votre choix, décrire un mécanisme physiopathologique de diarrhée entéro-invasive.

8. Recherche de *Neisseria gonorrhoeae* dans un prélèvement vaginal

Indiquer les modalités du prélèvement et les différentes étapes de l'analyse.

9. Les flagelles bactériens et la mobilité.

9.1. Quelle est la nature biochimique des flagelles ?

9.2. À l'aide de schémas annotés, décrire les différentes ciliatures rencontrées chez les bactéries.

9.3. Citer deux techniques courantes utilisées au laboratoire pour mettre en évidence la mobilité.

10. Méningites.

10.1. Citer trois agents bactériens fréquemment responsables de méningites à liquide trouble.

10.2. Comparer les cytologies du liquide céphalorachidien dans le cas d'une méningite à liquide trouble et dans celui d'une méningite à liquide clair.

11. Devant l'urgence que représente une septicémie, des techniques permettant un diagnostic rapide sont mises en œuvre à partir de la culture obtenue en flacon diphasique de *Castaneda*.

Décrire l'une de ces techniques.

12. Le comportement des bactéries vis-à-vis d'un antibiotique peut être connu par une méthode d'antibiogramme en milieu liquide utilisant les concentrations critiques supérieure et inférieure de cet antibiotique.

À l'aide d'exemples de résultats, expliquer comment s'effectuent la lecture et l'interprétation de cet antibiogramme.

13. Indiquer les critères d'identification de *Plasmodium falciparum* sur un frottis sanguin coloré par la technique de May-Grünwald Giemsa.

14. L'observation de l'appareil sporifère asexué d'un *Aspergillus* est une étape importante de son identification.

14.1. Faire un schéma légendé de cet appareil sporifère.

14.2. Indiquer les caractères morphologiques de cet appareil sur lesquels repose en partie le diagnostic d'espèce.

15. La grippe.

15.1. Présenter la structure du virus de la grippe.

15.2. Des pandémies massives de grippe sont observées plusieurs fois par siècle. Comment les explique-t-on ?

Immunologie

16. Sérologie de la syphilis par la technique TPHA

16.1. Indiquer le type de la réaction Ag-Ac mise en jeu.

16.2. Préciser la constitution du réactif-antigène utilisé.

16.3. Indiquer la composition qualitative de l'« absorbant » (parfois incorporé au réactif antigène), avec lequel on traite le sérum à tester. Quel est le but de ce traitement ?

17. Les lymphocytes T cytotoxiques

17.1. Schématiser la reconnaissance par un lymphocyte T cytotoxique (LTc) d'une cellule infectée par un virus.

17.2. Décrire le mode d'action des LTc.

18. Quelle recherche doit-on mettre en œuvre, lors d'un don du sang, en cas de résultat négatif ou douteux du groupage rhésus standard ? Justifier la réponse.

19. Définir la vaccination.

Donner la composition du vaccin DT polio (antidiphtérique, antitétanique, antipoliomyélitique).

20. Les apoprotéines sériques A1 et B peuvent être dosées par électro-immunodiffusion, technique de Laurell, dans un même gel d'agarose.

20.1. Indiquer les principaux réactifs nécessaires à la mise en œuvre de cette technique.

20.2. Quelles sont les principales étapes du protocole opératoire ?

20.3. Comment les concentrations en Apo A1 et Apo B des différents échantillons sont-elles déterminées ?

Hématologie

21. Les leucémies aiguës

21.1. Citer les deux grands types de leucémies aiguës.

21.2. Quels sont les résultats du myélogramme qui permettent de confirmer un diagnostic de leucémie aiguë, quel que soit le type ?

21.3. Pour différencier les deux grands types de leucémie aiguë, on réalise des colorations cytochimiques. En citer une en précisant les résultats.

22. Citer, dans l'ordre de maturation, les différents stades de la lignée granulocytaire neutrophile.

23. La coloration du May-Grünwald Giemsa permet de mettre en évidence des éléments d'affinité azurophile.

23.1. Citer deux cellules sanguines comportant des éléments azurophiles.

23.2. Quelle est la coloration de ces éléments ? Justifier la réponse.

24. Dans quel but est réalisé le test de falciformation ? Décrire l'aspect cellulaire observé.

Comment expliquer ce résultat positif ?

25. L'International Normalized Ratio (INR).

25.1. Définir l'INR.

25.2. Expliquer l'intérêt de cet indice.

26. Un bilan préopératoire de l'hémostase a donné les résultats suivants :

Numération des thrombocytes	300.10^9 par litre de sang
Taux de prothrombine	85 %
TS (méthode IVY incision)	5 min
Temps de céphaline activée (TCA)	47 s pour un témoin de 36 s

Le TCA réalisé ensuite avec un mélange volume à volume de plasma témoin normal et de plasma du patient est de 37 s.

26.1. Analyser ces résultats.

26.2. Quel facteur de coagulation doit-on alors doser ? Pourquoi ?

27. L'hémogramme réalisé chez un homme montre une anémie microcytaire hypochrome.

27.1. Quels paramètres permettent cette conclusion ? Indiquer leurs valeurs.

27.2. Quel test complémentaire envisager ? Préciser les résultats possibles.

TECHNOLOGIES D'ANALYSE BIOMÉDICALE 2000

(corrigé pp. 167-177)

Microbiologie

1. La détermination du type respiratoire.

1.1. Indiquer le principe et la technique de réalisation de cette recherche.

1.2. Présenter les différents résultats pouvant être observés.

1.3. Préciser l'intérêt de cette détermination pour l'identification des bacilles à Gram négatif, oxydase négative et cultivant en aérobiose.

2. Présenter sous forme de schéma deux types de ciliature observés chez les bacilles à Gram négatif.

Donner un exemple pour chacun.

3. Un nombre croissant d'infections nosocomiales est dû à des souches dites β-lactamase à spectre étendu (BLSÉ ou BSÉ).

3.1. Qu'est ce qu'une β-lactamase à spectre étendu ?

3.2. Comment met-on en évidence ces β-lactamases à spectre étendu sur un antibiogramme par la méthode des disques ?

3.3. Un mode fréquent de transmission, entre bactéries, des gènes codant pour les β-lactamases à spectre étendu est la conjugaison. Présenter succinctement les étapes de ce phénomène.

4. Un homme âgé présente des signes d'endocardite. Une souche de *Staphylococcus aureus* a été isolée et identifiée dans les hémocultures successives qui ont été réalisées, et une antibiothérapie a été instaurée, avec une association de gentamicine et d'oxacilline.

Pour vérifier l'efficacité du traitement, on effectue l'étude du pouvoir bactéricide du sérum.

On dispose :

– du sérum du patient ;

– d'une suspension de la souche de *Staphylococcus aureus* isolée du patient constituant l'inoculum bactérien.

4.1. Présenter succinctement le protocole opératoire, y compris la composition du témoin réalisé.

4.2. Après incubation, ce sérum présente un effet bactériostatique à la dilution 1/32. Schématiser, en la justifiant, la gamme de dilutions correspondant à ce résultat.

4.3. On repique ensuite chaque tube limpide par étalement d'une strie, à l'aide d'une anse calibrée de 10 µL, sur une gélose coulée en boîte de Pétri. Après incubation, on compte les colonies sur chaque strie. La plus grande dilution du sérum ayant un effet bactéricide est 1/8.

Quel est l'ordre de grandeur du nombre de colonies obtenues pour les stries réalisées à partir des dilutions 1/4, 1/8 et 1/16, sachant que la concentration bactérienne de départ est de 5×10^6 bactéries par mL ?

5. La recherche de l'agent responsable d'une diarrhée comprend toujours l'examen microscopique des selles. Cet examen inclut l'état frais, deux frottis, l'un coloré au bleu de méthylène, l'autre au Gram.

Préciser l'intérêt de chacune de ces préparations.

6. Comparer succinctement les mécanismes physiopathologiques de diarrhées dues à *E. coli* entéro-invasif et *E. coli* entérotoxique.

7. Reproduire et compléter le tableau suivant

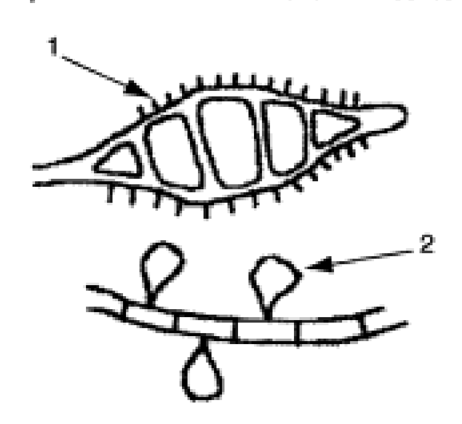
Forme parasitaire	**Produit biologique humain contenant la forme parasitaire**	**Taille approximative de la forme parasitaire en μm**	**Élément(s) morphologique(s) caractéristique(s)**
Œuf de *Schistosoma haematobium*			
Larve de *Trichinella spiralis*			
Embryophore de *Taenia saginata*			
Gamétocyte de *Plasmodium falciparum*			

8. Un enfant présente des plaques d'alopécie évoquant une teigne. L'examen direct montre la présence de filaments mycéliens.

8.1. Quels sont les genres de champignons dermatophytes susceptibles d'être impliqués dans des teignes ?

8.2. Sur quel milieu doit-on réaliser la culture ? Préciser les conditions d'incubation.

8.3. À partir du schéma d'un examen microscopique d'un fragment de culture présenté ci-après, indiquer le nom des éléments 1 et 2 observés.



9. Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un virus à ARN, enveloppé, qui fait partie de la famille des *Retroviridae*.

9.1. Expliquer pourquoi ce virus est particulièrement sensible aux agents tensio-actifs comme les savons.

9.2. Indiquer les précautions à prendre pour prévenir, au laboratoire, les risques de contamination du personnel et de l'environnement lors de la manipulation du sang et du sérum humain.

9.3. Quelle est la caractéristique du cycle de réplication de cette famille de virus qui justifie leur nom de *Retroviridae* ? Expliquer le principe du traitement par l'AZT ou zidovudine.

Biochimie

10. Certaines enzymes, dosées ou utilisées lors de dosages, contiennent des résidus de cystéine dont les fonctions thiol doivent rester sous forme réduite R-SH.

10.1. Donner la réaction d'oxydoréduction correspondant à la formation d'un pont disulfure entre deux résidus de cystéine.

10.2. Quelles peuvent être les conséquences, pour l'enzyme, de la formation de pont(s) disulfure ?

10.3. Des molécules organiques telles que le glutathion ou la cystéine sont ajoutées aux milieux réactionnels comme agents antioxydants. Justifier la réponse.

11. Présenter les mécanismes physiopathologiques de la formation d'un œdème consécutif à une hypoprotéinémie.

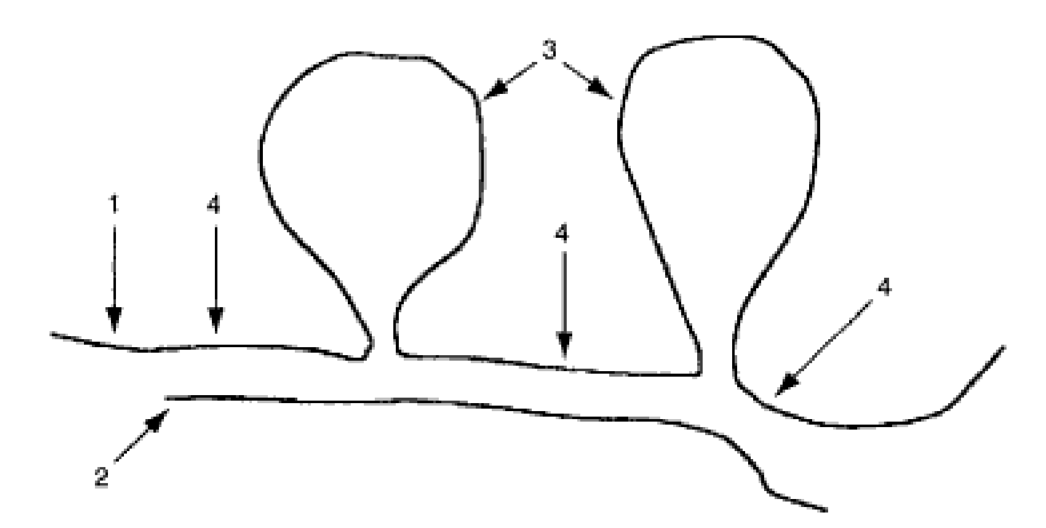
12. Équilibre acido-basique

12.1. Indiquer les différentes formes de transport du CO_2 dans le sang.

12.2. Expliquer comment les poumons interviennent lors d'une acidose métabolique et lors d'une alcalose métabolique.

13. Décrire succinctement les étapes permettant la production d'ATP par phosphorylation oxydative.

14. La figure ci-dessous représente l'hybride obtenu entre un ARN messager isolé du cytoplasme et l'ADN génomique d'une cellule eucaryote.



14.1. Donner le nom des éléments représentés (légendes 1, 2, 3 et 4).

14.2. Justifier l'aspect de cet hybride en présentant sous forme d'un schéma les étapes de la transcription d'un gène chez les organismes eucaryotes.

15. Le dosage de la bilirubine est réalisé selon le tableau suivant.

Tubes n°	1	2	3	4	5
Étalon à 0,1 mol.L^{-1} en solution dans le sérum normal (mL)	0	1	0	0	0
Sérum normal (mL)	1	0	0	0	0
Sérum à doser (mL)	0	0	1	1	1
Réactif à la caféine (mL)	2	2	2	2	0
Eau distillée (mL)	1	1	2	1	3
Diazoréactif (mL)	1	1	0	1	1

Indiquer le rôle de chacun des tubes 1 à 5. Justifier les réponses.

16. Présenter les modalités et les caractéristiques de la réabsorption rénale du glucose au niveau d'une cellule de l'épithélium tubulaire. Justifier l'absence de glucose dans l'urine chez un sujet normal.

Hématologie – Histologie

17. Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase

Après absorption d'un médicament à propriétés oxydantes, l'examen du sang d'un sujet montre la présence de nombreux corps de Heinz.

17.1. Donner le principe de la recherche des corps de Heinz.

17.2. Que représentent ces corpuscules ?

17.3. Justifier leur formation dans le cas présenté.

18. Thalassémie.

Chez un sujet atteint de thalassémie, on note la formule sanguine suivante (valeur en %)

polynucléaires neutrophiles	62
polynucléaires éosinophiles	0
polynucléaires basophiles	0
lymphocytes	23
monocytes	9
myélocytes neutrophiles	2
métamyélocytes neutrophiles	4
érythroblastes polychromatophiles et acidophiles	40

anisocytose importante à dominante microcytaire ;

hypochromie, nombreuses cellules cibles ;

hématies polychromatophiles et hématies à ponctuations basophiles ;

poïkilocytose.

Établir la formule leucocytaire en valeurs absolues en justifiant les calculs (nombre de leucocytes donné par l'automate : $14.10^9.L^{-1}$) et interpréter les résultats fournis.

19. Citer dans l'ordre les différents stades de la maturation d'un polynucléaire neutrophile.

20. Justifier l'utilisation de la paraffine dans le protocole de préparation des coupes histologiques.

21. Indiquer le ou les liquides biologiques et réactifs utilisés pour le dosage du fibrinogène par méthode chronométrique.

Citer un autre type de méthode permettant de doser cette protéine.

En quoi ces deux méthodes sont-elles complémentaires ?

22. Présenter les modes d'action de l'érythropoïétine (EPO) au niveau de la cellule cible.

Quelles sont les variations de l'hémogramme induites par une administration d'EPO ?

Quel est le facteur qui déclenche la synthèse de l'érythropoïétine ? Indiquer les cellules produisant cette hormone.

Immunologie

23. Sérodiagnostic de la grossesse.

On utilise un coffret comprenant :

– un antisérum ;

– un diluant ;

– une suspension d'hématies sensibilisées ;

– des compte-gouttes ;

– des tubes.

Donner le principe de ce test.

24. Le dosage de l'hormone chorionique gonadotrope (βHCG), dans le plasma, est réalisé par une méthode immuno-enzymatique de type sandwich.

24.1. Indiquer, en illustrant de schémas, le principe du dosage de cette hormone.

24.2. Préciser le rôle des lavages effectués lors de la manipulation.

25. Le sérodiagnostic de la toxoplasmose peut être réalisé par différentes techniques immunologiques.

25.1. Citer deux de ces techniques.

25.2. Préciser, pour chacune d'entre elles, la méthode utilisée pour titrer les IgM spécifiques. Justifier l'intérêt de ce titrage.

26. Présenter les processus cellulaires par lesquels s'installe et se déclenche la réaction d'hypersensibilité immédiate.

27. Dans quelles circonstances les cellules synthétisent-elles l'interféron β ? Quel est alors son rôle ?

TECHNOLOGIES D'ANALYSE BIOMÉDICALE 1995

Biochimie

1. Clairance de la créatinine

La créatinine est filtrée, non réabsorbée, non sécrétée par le rein. La clairance en créatinine représente le débit de filtration glomérulaire.

$$C = \frac{UV}{P} \qquad C = 1 \text{ mL.s}^{-1}$$

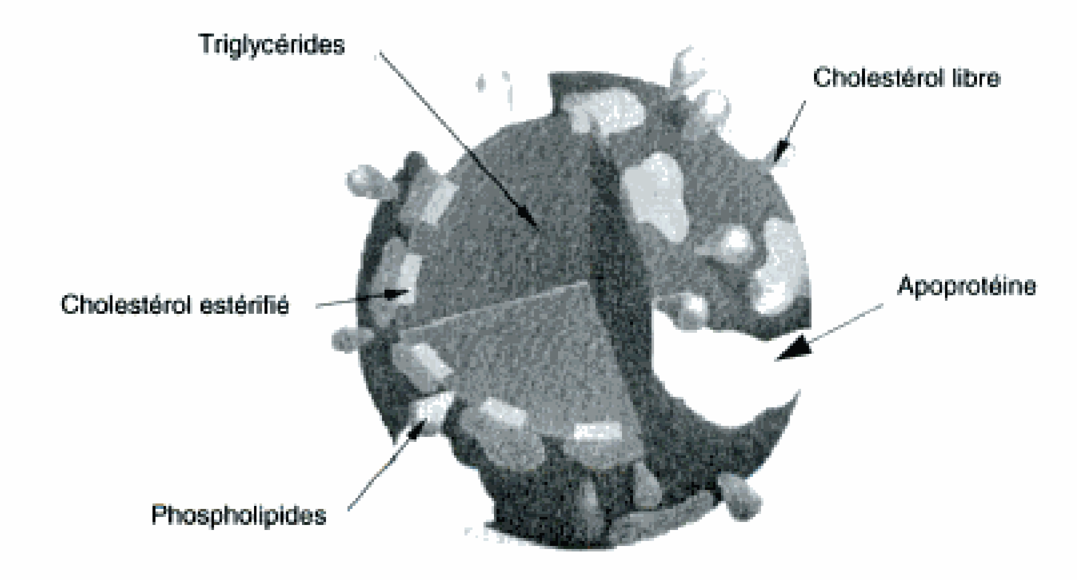
La valeur est abaissée, c'est le signe d'une insuffisance rénale.

2. Les différentes catégories de lipides sériques sont :
– les acides gras ;
– les phospholipides ;
– le cholestérol (libre et estérifié) ;
– les triglycérides.

3. Structure générale d'une lipoprotéine

Le pôle hydrophile est constitué par des phospholipides, du cholestérol libre (–OH) et des apoprotéines qui se trouvent en surface.

Le noyau central, hydrophobe, est constitué de triglycérides et cholestérol estérifié.



4. Glucose-6-phosphate déshydrogénase érythrocytaire

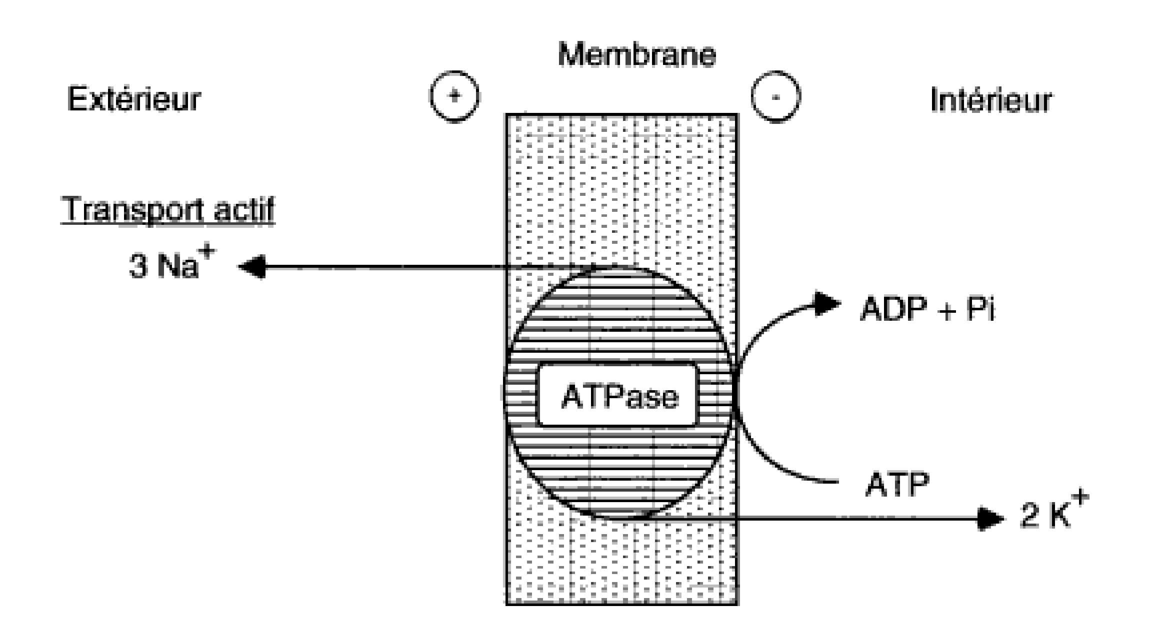
$$\text{Glucose 6-P} + NADP^+ \xleftrightarrow{\textit{glucose-6-phosphate déshydrogénase}} \text{Gluconate 6-P (ou gluconolactone-6P)} + NADPH,H^+$$

La glucose-6-phosphate déshydrogénase intervient dans la voie des pentoses phosphates dans l'érythrocyte.

Le dosage sera effectué sur l'hémolysat puisque l'enzyme est présente dans les érythrocytes.

5. Mécanisme d'un transport actif transmembranaire

Le transport actif s'effectue à l'aide d'un transporteur dans le sens inverse du gradient de concentration et avec consommation d'énergie (ATP).



6. Dosage de l'albumine sérique par la méthode au vert de bromocrésol :

La limite de linéarité de la méthode est de 500 µg/tube. La gamme sera établie de 0 à 500 µg/tube.

La concentration de la solution d'albumine diluée est :

$$\frac{500 \times 10^{-6}}{200 \times 10^{-6}} = 2{,}5 \text{ g.L}^{-1}$$

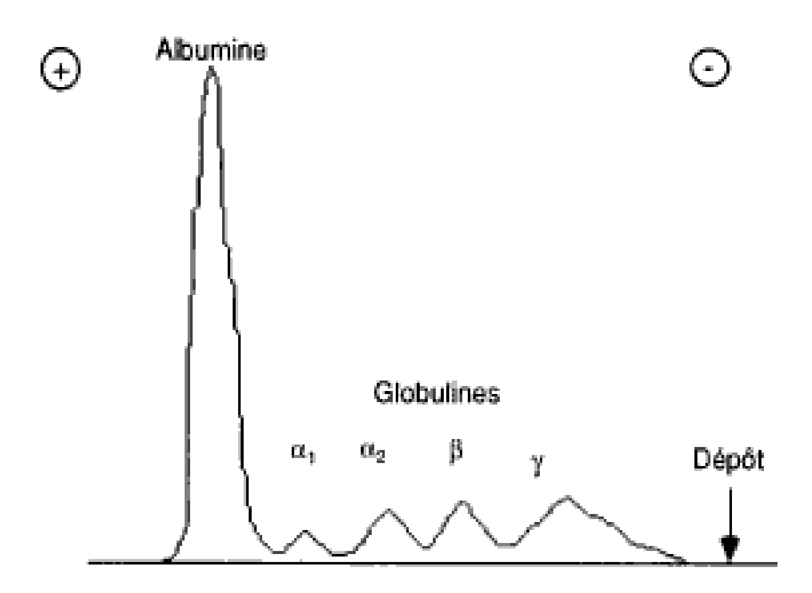
D'où la dilution de la solution étalon :

$$d = \frac{50}{2{,}5} = 20$$

Gamme proposée :

Tubes	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**
Solution étalon d'albumine diluée au 1/20 (µL)	0	50	100	150	200
Eau physiologique (µL)	200	150	100	50	0
Réactif de coloration (mL)	5	5	5	5	5
Quantité d'albumine (µg)	0	125	250	375	500

7. Allure du tracé densitométrique d'un protéinogramme de sérum normal à pH 8,6 sur acétate de cellulose



8. Sécurité

Symbole A : facilement inflammable.

Symbole B : toxique.

Symbole C : corrosif.

Microbiologie

9. *Candida albicans* est une levure.

Un état frais permet de montrer qu'il s'agit d'une levure. On observe une cellule ronde ou ovalaire de 3 à 5 µm éventuellement bourgeonnante. La coloration de Gram n'apporte pas de renseignement supplémentaire car les levures sont des cellules eucaryotes.

Un milieu RAT ou PCB permet de montrer, après 24 à 48 heures, la présence de pseudomycélium pour toutes les levures du genre *Candida* et de chlamydospores s'il s'agit de l'espèce *albicans*.

Le milieu RAT (riz, agar, tween) est un milieu pauvre favorisant la formation de chlamydospores caractéristiques de l'espèce *albicans*. Il est coulé en couche mince en petite boîte de Pétri et ensemencé par stries recouvertes d'une lamelle. La boîte est incubée à température ambiante ou à 30°C. Le milieu étant transparent, l'observation microscopique peut être effectuée directement en posant la boîte sur la platine du microscope et en utilisant un objectif × 10. Les levures du genre *Candida* sont reconnaissables par la présence de pseudomycélium et de blastospores. L'espèce *albicans* est identifiée par ses chlamydospores, spores de 6 à 12 µm à parois épaisses réfringentes, apparaissant aux extrémités des filaments.

Le milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile) est un milieu équivalent mais conditionné en tube et demandant donc un état frais pour la lecture.

Le test de blastèse ou test de Taschdjian permet d'identifier l'espèce *albicans* car c'est la seule levure capable de former des tubes germinatifs en sérum et en 3 heures.

10. *Clostridium tetani* est une bactérie anaérobie stricte.

C'est un bacille à Gram positif sporulé de la flore tellurique qui produit une exotoxine protéique neurotrope.

10.1. La spore bactérienne est une forme de résistance. Elle résiste aux agents physiques tels que la chaleur (certaines résistent à 80°C et à 100°C), la sécheresse, les rayonnements (UV), les fortes pressions, et aux agents chimiques. Elle résiste plus longtemps aux antiseptiques (il faut 24 heures pour détruire une spore avec du formol à 20 %).

10.2. Le tétanos est une toxi-infection qui débute par la pénétration de spores de *Clostridium tetani* dans l'organisme. Les spores pénètrent le plus souvent à la faveur d'une lésion cutanée profonde. Au point d'inoculation, si les conditions d'anaérobiose sont suffisantes, les spores germent et donnent des bactéries qui produisent une toxine. Cette toxine gagne le système nerveux central soit par voie hématogène, soit par voie nerveuse (la toxine remonte le long des axones des motoneurones). Elle se fixe alors sur des lipides du tissu nerveux et agit sur une cible spécifique, ce qui entraîne une paralysie spastique (contractures permanentes).

11. L'urine est naturellement stérile mais le prélèvement de l'urine ne s'effectue pas stérilement. De plus les bactéries se développent facilement dans l'urine. La présence de bactéries dans l'urine n'est donc pas un critère suffisant pour conclure à une infection urinaire. Il faut montrer un état inflammatoire par la présence de leucocytes à un taux significatif dans l'urine et une bactériurie suffisante. Les deux critères, leucocyturie et bactériurie, doivent être recherchés sur une urine fraîchement émise (moins de 2 heures).

Leucocyturie : elle se détermine sur l'urine entière par une numération en hématimètre. Le seuil le plus souvent admis est de 10^4 leucocytes/mL. Parfois, lorsque l'examen du culot de centrifugation montre plus de 20 leucocytes par champ, on se dispense de la numération en hématimètre car elle donnerait un résultat supérieur au seuil.

Bactériurie : elle se recherche de différentes manières mais toutes les techniques reviennent à numérer les colonies obtenues, après mise en culture d'un volume plus ou moins précis d'urine. Une colonie correspondant à une bactérie de l'urine, le nombre de colonies indique le nombre de bactéries de l'urine. Le seuil le plus souvent admis est de 10^5 bactéries/mL.

Une bactériurie supérieure ou égale à 10^5/mL et une leucocyturie supérieure ou égale à 10^4/mL sont le signe d'une infection urinaire. D'autres critères peuvent être pris en compte comme étant des preuves d'infection : présence de cylindres leucocytaires ou granuleux (un cylindre est un moulage de tubule rénal), hématurie, cellules rénales.

12. Le test « oxydase » est un test empirique qui n'explore pas une enzyme particulière.

12.1. Il permet de mettre en évidence la capacité pour une bactérie à oxyder la forme réduite d'un oxalate ou d'un chlorhydrate de méthyl-paraphénylène-diamine incolore. La forme oxydée de ce réactif est rouge-violacé. Pour un test « oxydase négatif », le réactif restera incolore en présence de la bactérie.

12.2. Il ne permet pas de prévoir le type respiratoire. Pour un même type respiratoire, le test d'oxydase peut être positif ou négatif. Parmi les bactéries aéro-anaérobies facultatives, on retrouve les entérobactéries oxydase négatif et les vibrions oxydase positifs. De même, pour les bactéries aérobies strictes, les *Acinetobacter* sont oxydase négatifs et *Pseudomonas* oxydase positif.

13. Plusieurs milieux peuvent être utilisés pour l'étude de la voie d'attaque du glucose.

Ils ont des caractéristiques communes permettant de mettre en évidence la dégradation du glucose par une acidification du milieu en présence et en absence du dioxygène.

Ils doivent avoir une base gélosée suffisamment nutritive mais relativement pauvre en peptones, car la dégradation des peptones par les bactéries libère des produits alcalins. Ils doivent être exempts de glucide et peu tamponnés pour rendre le milieu plus sensible.

Ils doivent être faiblement gélosés pour que le dioxygène de l'air ne se redissolve pas trop vite après régénération et ensemencement, et pour limiter la diffusion des produits acides.

Ils doivent contenir un indicateur de pH pour visualiser l'acidification due à la dégradation du glucose ajouté au moment de l'emploi à une concentration de 10 g/L.

Deux milieux sont ensemencés après avoir retiré le dioxygène dissout. L'un sera incubé tube non fermé hermétiquement et l'autre recouvert de paraffine pour permettre une culture en anaérobiose.

Après 24 heures d'incubation, plusieurs aspects des tubes sont possibles :

- les deux tubes sont entièrement acidifiés, le glucose est dégradé en présence et en absence de dioxygène. La voie d'attaque du glucose est dite « fermentative » même si la bactérie utilise la voie oxydative lorsqu'elle est en présence de dioxygène. C'est le cas des entérobactéries, des vibrions, etc.
- seul le tube sans paraffine présente une acidification en surface. La voie d'attaque du glucose est dite « oxydative », la bactérie ne dégrade le glucose qu'en présence de dioxygène. C'est le cas des *Pseudomonas*, des *Acinetobacter*, etc.
- aucune acidification n'est observée, la bactérie est inerte vis-à-vis du glucose. C'est le cas des *Alcaligenes* qui, étant aérobie strict, alcalinise le plus souvent le milieu à la surface du tube sans paraffine.

Ces milieux ne sont utilisés que pour les bacilles à Gram négatif et ce sont donc les seuls aspects observés pour ces bactéries.

14. L'ampicilline est un antibiotique de la famille des β-lactamines du groupe des pénicillines comme l'amoxicilline. L'acide clavulanique fait également partie de cette famille mais son activité antibiotique est faible, c'est un inhibiteur des β-lactamases. Les β-lactamases sont des enzymes produites par les bactéries qui hydrolysent certaines β-lactamines dont l'ampicilline et l'amoxicilline.

Cet *E. coli* présente une résistance vis-à-vis de l'ampicilline mais l'activité antibiotique est récupérée lorsqu'on associe l'amoxicilline (équivalent de l'ampicilline) à un inhibiteur de β-lactamase (l'acide clavulanique). Cette bactérie synthétise donc une β-lactamase qui la rend résistante à l'ampicilline. L'acide clavulanique inhibe la β-lactamase, ce qui permet à l'amoxicilline d'agir.

15. L'herpès est une infection due au virus herpès simplex, virus de la famille des *Herpes viridae*. Cette famille comprend, outre les herpès simplex, le virus de la varicelle et du zona, le cytomégalovirus, le virus d'Epstein-Barr, et le 6e herpès virus humain. Seules les infections dues à l'herpès simplex sont à traiter ici.

15.1. L'herpès peut se présenter sous différentes formes :

- la primo-infection herpétique, qui correspond à la multiplication du virus au niveau de la porte d'entrée dans l'organisme : soit la bouche, ce qui entraîne une pharyngite ou une gingivostomatite, soit les organes génitaux. On observe des lésions vésiculaires (vésicules herpétiques) ;
- l'herpès récurrent qui se manifeste dans les mêmes zones : lèvre pour l'herpès buccal et organes génitaux pour l'herpès génital ;
- les formes cliniques graves : herpès oculaire, encéphalite herpétique, herpès néonatal, herpès des sujets immunodéficients.

15.2. La mise en évidence du virus est possible soit directement sur le prélèvement, soit après culture.

Le virus peut être détecté grâce à la mise en évidence des antigènes viraux. On utilise pour cela des anticorps spécifiques marqués soit par un fluorochrome, soit par une enzyme catalysant une réaction colorée.

À partir du prélèvement, les cellules sont récoltées par grattage de la lésion, mises en suspension, étalées sur une lame, fixées et incubées en présence de l'anticorps conjugué. La lecture de la fluorescence s'effectue directement après le lavage, en microscopie UV.

La technique immuno-enzymologique permet la détection d'antigènes solubilisés dans le prélèvement mais elle est surtout utilisée après culture du virus. Dans ce cas, le prélèvement est inoculé à une culture de cellules permissives pour le virus, la culture dure de 36 heures à plusieurs jours. La mise en évidence des antigènes viraux se fait par addition d'anticorps conjugués à une enzyme. La culture cellulaire est ensuite lavée, le substrat chromogène est ajouté, les structures cellulaires portant les antigènes viraux apparaissent colorées. Dans le cas de l'herpès simplex, il s'agit du noyau.

Le virus peut aussi être détecté par son effet cytopathique, soit directement sur le prélèvement, soit après culture du virus. Les cellules infectées prennent la forme de ballon, la chromatine du cytoplasme se marginalise : en culture, elles se détachent du support. L'effet cytopathique peut être observé après une coloration qui montre de volumineuses inclusions éosinophiles intranucléaires.

Cet effet cytopathique n'est pas spécifique de l'herpès simplex. Pour un diagnostic précis et un typage du virus, il faut donc rechercher les antigènes viraux.

16. Le diagnostic de l'anguillulose repose sur la mise en évidence des larves d'anguillules. Ce parasite (*Strongyloïdes stercoralis*) est un nématode dont les œufs,

pondus par les femelles adultes, éclosent dans l'intestin et donnent naissance à des larves rhabditoïdes émises dans les selles. À l'examen direct, sans préparation, il est rare de les observer. Une technique spécifique permet de les concentrer : la technique de Baerman. Les larves d'anguillules ont la propriété d'être attirées par l'eau chaude. Il suffit donc de les faire migrer vers de l'eau à 45 °C dans laquelle il sera facile de les observer.

L'appareillage consiste en un entonnoir dont la tubulure est prolongée par un tuyau de caoutchouc fermé par une pince et une passoire métallique s'adaptant dans l'entonnoir.

Dans la passoire tapissée d'une ou de deux couches de gaze, on dépose 10 à 20 g de selle. La gaze est rabattue sur la selle.

L'entonnoir est rempli jusqu'au tiers de sa hauteur avec de l'eau chaude (45 °C). La passoire, une fois placée dans l'entonnoir, doit juste être en contact avec l'eau (l'eau doit affleurer la partie inférieure des selles).

Les larves vont migrer vers l'eau chaude. Au bout d'une demi-heure, on soutire de l'eau de l'entonnoir par le tuyau souple, l'eau est centrifugée (1 500 tours par minute pendant 2 min), les larves sont recherchées dans le culot. Si la recherche est négative, recommencer et soutirer l'eau au bout de 2 à 3 heures.

Pour être efficace cette technique doit être pratiquée sur des selles fraîches et suffisamment consistantes. Si la selle a plus de 18 heures, les larves rhabditoïdes non infestantes peuvent se transformer en larves strongyloïdes infestantes. Ces larves ont la propriété de traverser la peau saine d'où un risque de contamination lors de la manipulation.

La larve d'anguillule mesure 200 à 300 µm de long.

Hématologie

17. L'éosinophilie se définit par un nombre de granulocytes éosinophiles supérieur à $0{,}5.10^9$/L dans le sang.

Elle peut être due par exemple à :

– une parasitose (le plus souvent une helminthiase);

– une allergie.

18. Il y a une diminution de Hb A1, une légère augmentation de Hb A2 et une forte augmentation de Hb F. On trouve ce type de résultat en cas de β-thalassémie majeure. Dans ce cas, sur frottis, on observe de nombreuses hématies cibles, une hypochromie nette, une anisocytose importante, la présence d'inclusions érythrocytaires et d'érythroblastes.

19. Chez M. X et Mme Y le TCA est allongé. Cet allongement du TCA peut être dû à un déficit en facteurs de la coagulation ou à la présence d'un anticoagulant circulant.

Dans le premier cas, le mélange plasma du patient + plasma témoin donne un TCA normal. Dans le second cas, le TCA du mélange est allongé.

Donc, chez Mme Y, il s'agit d'un déficit en un ou plusieurs facteurs de la coagulation explorés par le TCA et, chez M. X, il s'agit d'un anticoagulant circulant.

20. L'urokinase active le plasminogène en plasmine. La plasmine hydrolyse la fibrine. L'urokinase joue essentiellement un rôle dans la lyse des dépôts fibrineux formés hors du système vasculaire.

21. Le diagnostic de la maladie de Kahler repose sur la présence dans la moelle de plus de 15 % de plasmocytes.

L'étude des protéines sériques nécessite trois étapes :

– dosage des protéines sériques, on trouve dans ce cas une hyperprotéinémie (> 100 g/L) ;
– électrophorèse des protéines sériques qui montre un pic étroit le plus souvent dans la zone des gammaglobulines ;
– immuno-électrophorèse qui permet de caractériser l'immunoglobuline monoclonale (le plus souvent une IgG).

22. La vitamine B12 est nécessaire à la synthèse du dTMP et donc indispensable à la synthèse de l'ADN.

Une carence en vitamine B12 entraîne donc des mitoses lentes et parfois anormales. Par contre, la synthèse de l'hémoglobine n'est pas touchée et la maturation cytoplasmique est normale. Il y a donc un asynchronisme de maturation nucléocytoplasmique.

La concentration en hémoglobine du cytoplasme provoquant l'arrêt des mitoses avant que le nombre habituel de celles-ci soit atteint, les cellules subissent moins de mitoses d'où leur grande taille.

23. L'un des fixateurs les plus utilisés en anatomopathologie est le liquide de Bouin, dont la composition qualitative est la suivante :

– formol ;
– acide acétique ;
– acide picrique ;
– eau.

Le formol salé est également utilisé :

– formol ;
– eau physiologique.

24. Les principales précautions à respecter dans la mise en œuvre de la fixation en anatomopathologie sont les suivantes :

– fixer sitôt après le prélèvement ;
– introduire la pièce dans le fixateur ;
– prévoir un volume de fixateur de 10 à 15 fois le volume de la pièce.

Immunologie

25. Antistreptodornases

Le dosage des antistreptodornases d'un sérum est réalisé par une réaction de neutralisation : il s'agit, ici, de la neutralisation de l'activité enzymatique de la

rochrome est ajoutée. Après incubation puis lavage, une lecture est effectuée au microscope à fluorescence : la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum se traduira par une fluorescence des toxoplasmes.

Le test de Remington est une réaction d'immunofluorescence indirecte où l'antiglobuline marquée utilisée est une anti-IgM (anti-chaînes μ) : ainsi, seules les IgM spécifiques seront révélées, leur présence indiquant une toxoplasmose débutante.

29. L'hypersensibilité dont le mécanisme implique une réponse immunitaire exclusivement retardée est l'hypersensibilité de type IV ou hypersensibilité retardée.

30. Dans l'hypersensibilité de type IV, les cellules spécifiques intervenant sont les lymphocytes T (lymphocytes T inducteurs, CD4+ et lymphocytes T cytotoxiques, CD8+).

TECHNOLOGIES D'ANALYSE BIOMÉDICALE 1996

Microbiologie

1. Les diarrhées sont définies par l'émission de selles anormalement fréquentes et liquides. L'aspect liquide est dû soit à l'inhibition de l'absorption d'eau, soit à une augmentation de la sécrétion d'eau par les entérocytes. Les diarrhées peuvent être d'origine virale, parasitaire, fongique ou bactérienne. La question porte sur les diarrhées entéro-invasives qui concernent les bactéries. Les bactéries n'agissent pas toutes de la même manière : certaines sont entéro-toxigènes, d'autres entéro-invasives, d'autres enfin sont opportunistes et ne s'installent qu'à la faveur d'une disparition de la flore normale.

Les bactéries entéro-invasives pénètrent dans l'organisme par voie digestive. Ce sont les aliments ou l'eau qui sont responsables de la contamination.

Ces bactéries ont la propriété de se fixer aux entérocytes grâce à des structures d'adhésion. Une fois attachées, elles pénètrent dans l'entérocyte, s'y multiplient, gagnent les cellules voisines, entraînent une réaction inflammatoire locale. Les conséquences en sont la non-réabsorption d'eau par les entérocytes, la présence de leucocytes, d'hématies et de mucus dans les selles.

Ce processus a été décrit dans le cas de *Shigella dysenteriae*, qui est la bactérie entéro-invasive type. D'autres bactéries agissent de même : les *Escherichia coli* entéro-invasifs et entéro-hémorragiques, certaines *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni/coli*.

2. *Chlamydia trachomatis* est une bactérie parasite intracellulaire obligatoire. Certains sérovars ne se développent que dans les cellules épithéliales cylindriques, d'autres se multiplient dans les macrophages. Le pouvoir pathogène dépend donc du sérovar. Cette espèce est responsable du trachome, de lymphogranulomatose vénérienne, d'infections oculaires, pulmonaires et génitales. Dans cette question, il ne s'agit que du diagnostic des infections génitales à *C. trachomatis*. Ces infections sont des maladies sexuellement transmissibles (MST) actuellement très répandues qui restent difficiles à dépister en raison de la physiologie de la bactérie. Cette bac-

térie est, à l'heure actuelle, responsable, seule ou associée à d'autres micro-organismes, de 30 à 40 % des urétrites, cervicites, salpingites, orchi-épididymites.

Le diagnostic repose sur la mise en évidence de la bactérie dans les cellules du prélèvement.

Le prélèvement se fait par grattage de la muqueuse urétrale ou cervicale. Au cours d'une cœlioscopie, un frottis de la muqueuse des trompes peut être effectué.

Les bactéries sont visualisées par la mise en évidence de leurs antigènes par une technique d'immunofluorescence en utilisant des anticorps spécifiques conjugués à un fluorochrome. Cette technique est simple à pratiquer mais difficile à interpréter. Elle met en évidence les corps élémentaires (particules infectieuses sphériques de 0,3 µm) fluorescents.

Une technique immuno-enzymatique de type ELISA peut être utilisée. De nombreux kits sont proposés : sur membrane, en microplaque, sur bille. Leur valeur est variable.

La technique la plus fiable consiste à amplifier une partie du génome de la bactérie (soit un plasmide spécifique, soit un gène codant pour une protéine majeur de membrane externe, soit un gène codant pour un ARNr) par exemple par PCR, et de l'identifier grâce à une sonde froide spécifique. La technique de détection directe de l'ARN ribosomal de *C. trachomatis* par sonde froide directement dans le prélèvement n'est pas suffisamment sensible.

Bien que peu utilisée, la mise en culture du prélèvement sur cellules permissives pour les *C. trachomatis* (cellules de Mac Coy par exemple) est une technique de référence. Un milieu de transport doit être utilisé, tel le milieu 2SP, pour maintenir vivantes les bactéries.

L'incubation dure 2 à 3 jours. La présence des *Chlamydia* est recherchée par une réaction immunoenzymologique.

Lors d'enquêtes épidémiologiques, on recherche les anticorps anti-*Chlamydia* dans le sérum des patients par une technique d'immunofluorescence indirecte.

3. Une infection urinaire haute touche la partie haute de l'arbre urinaire donc le rein. Il s'agit d'une pyélonéphrite, une atteinte du bassinet et de la médullaire rénale. Les éléments figurés devront provenir de cet organe. On pourra citer :

- les cylindres leucocytaires ou granuleux, moulages protéiques de tubule rénal. Ce sont des éléments de grande taille (plus de 100 µm de long) qui, au départ, sont formés par la précipitation de protéines en milieu trop acide (cylindre hyalin). Des leucocytes peuvent s'y trouver englobés (cylindre leucocytaire ou granuleux si les cellules sont altérées) : ils sont alors le signe d'une infection du tissu rénal. Ces éléments seront ensuite entraînés dans l'urine ;
- les cellules rénales, un peu plus grandes qu'un leucocyte, à noyau rond d'une taille équivalente à celle du cytoplasme. Ces cellules ne se retrouvent dans l'urine qu'en cas d'inflammation du tissu rénal ;
- les leucocytes seront présents mais le seront aussi en cas d'infection basse (cystite). Leur seule présence ne suffit donc pas pour prouver une pyélonéphrite;
- les hématies, quand elles sont altérées, peuvent être un critère supplémentaire.

4. Le test oNPG tire son nom du réactif utilisé : ortho-nitro-phényl-β-D-galactopyranoside. Ce réactif est un chromogène. Il est incolore sous cette forme et coloré en jaune lorsqu'il est hydrolysé en ortho-nitro-phénol (coloré) et galactose. L'enzyme

capable de catalyser cette réaction est une oNPG-hydrolase. Les bactéries possèdant une galactosidase hydrolysent le lactose en galactose et glucose, et aussi l'oNPG qui présente aussi une liaison de type β-1,4 avec le galactose.

Le test de dégradation du lactose est un critère très important dans le diagnostic des bactéries à Gram négatif. Lorsque ce test est négatif, il faut vérifier l'éventuelle présence d'une oNPG-hydrolase. En général, un test oNPG positif est assimilé à un test lactose positif.

Technique : la bactérie est prélevée sur un milieu lactosé lorsque l'enzyme est inductible (cas des entérobactéries) ou sur un milieu non lactosé si l'enzyme est constitutive (cas des *Neisseria*). On effectue une suspension dense dans le réactif sous forme liquide ou dans de l'eau distillée additionnée d'un disque de papier buvard imprégné du réactif sec.

La suspension est incubée à 37 °C dans un bain thermostaté. Le tube est examiné après 15 minutes, puis régulièrement toutes les 30 minutes. Un test positif se traduit par l'apparition d'une coloration jaune.

Le réactif peut s'hydrolyser spontanément, on ne peut prolonger l'incubation plus de 24 heures.

5. La flore de Veillon est constituée des bactéries anaérobies strictes non sporulées de la flore commensale de l'homme. C'est la flore endogène par opposition à la flore tellurique constituée de *Clostridium*, l'autre groupe des anaérobies strictes.

Elles sont abondantes dans toutes les cavités de l'organisme, bouche (amygdales) et intestin particulièrement. Elles peuvent entraîner, à la faveur d'une diminution des défenses de l'organisme ou d'une association avec une autre bactérie, des infections diverses. Ce sont des bactéries opportunistes.

Les *Bacteroïdes* sont les bactéries le plus souvent à l'origine d'infection. L'espèce *fragilis* est capsulée, ce qui la protège de la phagocytose. Elles sont retrouvées dans des suppurations proches des muqueuses : infections stomatologiques, otites, sinusites, péritonites, abcès intra-abdominal, salpingite, mais aussi infections pulmonaires, septicémies, méningites.

Les *Fusobacterium* en association avec des spirilles sont responsables d'une angine ulcéro-nécrotique, l'angine de Vincent.

Les *Gardnerella* et les *Mobiluncus* sont responsables de vaginoses, infections du vagin sans pus mais montrant une prolifération très importante de germes et la présence de *Clue-cells* (cellules épithéliales entièrement recouvertes de bactéries).

Les *Peptococcus* et *Peptostreptococcus* sont retrouvés à l'origine de septicémies ou d'infections intra-abdominales (souvent en association avec une bactérie aéro-anaérobie facultative intestinale).

6. La résistance naturelle des bactéries aux antibiotiques est celle que l'on observe chez une bactérie avant tout contact avec l'antibiotique. C'est la caractéristique des souches dites sauvages. Elle est due au patrimoine génétique de la bactérie. C'est celle qui permet de déterminer le spectre d'activité d'un antibiotique : liste des bactéries naturellement sensibles à cet antibiotique.

Pour agir, l'antibiotique doit pénétrer non altéré dans la bactérie, rester actif jusqu'à son arrivée et sa fixation sur la cible. C'est la fixation sur la cible spécifique qui détermine l'effet antibactérien d'un antibiotique.

Trois types de mécanismes sont donc utilisables par la bactérie pour acquérir une résistance :

– rendre difficile, voire impossible, la pénétration de l'antibiotique en diminuant le nombre des porines ou en en modifiant la structure. Cette résistance n'est possible que pour les bactéries à Gram négatif. La pénétration de l'antibiotique à travers la paroi des Gram positif ne nécessitant pas de mode de transport particulier, la bactérie ne peut la contrer ;

– inactiver l'antibiotique avant sa pénétration ou dans l'espace périplasmique grâce à une enzyme. Exoenzyme dans le premier cas, endoenzyme dans le second ;

– modifier la structure moléculaire de la cible pour que la fixation de l'antibiotique ne soit plus possible. La bactérie peut aussi diminuer fortement le nombre de molécules cibles, voire en arrêter la synthèse.

Un seul de ces mécanismes suffit pour rendre la bactérie résistante à l'antibiotique concerné et parfois à toute une famille d'antibiotiques. L'efflux actif chez les bactéries à Gram négatif (l'antibiotique pénètre dans la cellule et en est exclu avant toute action) peut être également une forme de résistance.

7. Les *Aspergillus* sont des champignons de la classe des Ascomycètes, de l'ordre des Plectomycètes et de la famille des Aspergillacées. Ce sont des champignons cosmopolites retrouvés dans les lieux humides sur les matières organiques en décomposition. Ils sont inhalés, avec d'autres champignons, sous forme de spores. Dans les conditions physiologiques normales, ces spores sont rapidement éliminées grâce aux moyens de défense non spécifiques de l'arbre respiratoire (cils, mucus, etc.). En cas d'anomalies morphologiques ou fonctionnelles de l'arbre respiratoire ou en cas d'immunodépression importante, les spores ne sont pas éliminées, elles prolifèrent et entraînent une aspergillose pulmonaire.

Le diagnostic mycologique est posé par la mise en évidence du champignon dans les prélèvements tels que produits d'expectoration, produit d'aspiration bronchique, lavage broncho-alvéolaire, liquide pleural.

L'isolement est réalisé sur des géloses Sabouraud-chloramphénicol ou gentamycine sans actidione qui inhibe les *Aspergillus*. Les tubes sont incubés à 37 °C et à 25 °C (pour différencier les *Aspergillus* pathogènes cultivant bien à 37 °C des contaminants qui préfèrent 25 °C).

La culture n'est caractéristique qu'en 3 à 4 jours. Il faut garder les tubes 15 jours avant de rendre un résultat négatif.

Le diagnostic de genre et d'espèce est fondé sur l'aspect macroscopique et microscopique des cultures : couleur et aspect des colonies, aspect du champignon à l'état frais.

Leur mycélium est constitué de filaments cloisonnés, ramifiés, incolores et par des filaments (conidiophores) terminés par une vésicule arrondie portant parfois des métules et toujours des phialides d'où s'échappent des conidies rondes, lisses ou finement échinulées. L'ensemble s'appelle « tête aspergillaire » car il fait penser à un aspersoir.

L'identification repose sur l'aspect et la taille du conidiophore, l'aspect des vésicules, la présence ou non des métules, la disposition des phialides, l'aspect et la taille des conidies.

Remarque : en cas de recherche négative, un diagnostic immunologique est possible. Il repose sur la mise en évidence d'anticorps sériques ou d'antigènes solubles (chez les malades gravement immunodéprimés). Pour les anticorps, des techniques d'immunoprécipitation, d'immunoélectrophorèse et d'électrosynérèse sont utilisées. Pour les antigènes solubles, une technique d'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps anti-antigène aspergillaire (galactomannane) est utilisée. Ce diagnostic n'était pas à traiter car la question portait sur l'isolement à partir d'un produit d'expectoration.

8. Le virus de la poliomyélite est un virus sans enveloppe (nu) dont la capside est icosaédrique (symétrie cubique) et dont le génome est constitué d'une molécule d'ARN à structure d'ARN messager. Celui-ci peut être lu directement sur les ribosomes cellulaires (ARN positif).

8.1. Ces virus se répliquent dans le cytoplasme de la cellule hôte. Le virus doit se fixer sur la membrane de la cellule par liaison entre une protéine virale et un récepteur cellulaire spécifique. Le virus pénètre ensuite par endocytose (pinocytose) et est décapsidé par des enzymes cellulaires. L'ARN viral est directement traduit en une polyprotéine qui sera coupée par des protéases cellulaires et d'autres codées par le virus. Les protéines obtenues sont celles de la capside et l'ARN polymérase. L'ARN polymérase va synthétiser un brin négatif complémentaire de l'ARN viral, le brin néosynthétisé servant de matrice à l'ARN polymérase pour la synthèse de nombreux brins positifs qui seront encapsidés. Les brins positifs néosynthétisés peuvent aussi être traduits en protéine. L'assemblage, de l'ARN et des protéines capsidaires, s'effectue dans le cytoplasme. La libération se fait par lyse cellulaire car il s'agit d'un virus nu.

8.2. Ce virus résiste bien dans le milieu extérieur car il n'est pas enveloppé. C'est l'enveloppe qui rend un virus fragile car elle est de nature lipidique et très sensible aux détergents, à la chaleur, etc. Un virus enveloppé ne survit pas dans la nature contrairement aux virus nus. Le virus de la poliomyélite se trouve dans l'eau contaminée par des selles. Il résiste à l'alcool, à l'éther, aux sels biliaires, aux détergents, au pH acide et aux températures ambiantes. Il est détruit par les oxydants (eau de Javel), le formol et les UV.

9. La culture des virus se pratique à partir de prélèvements conservés à 4°C, débarrassés des bactéries de la flore commensale et centrifugés. Pour les virémies, le plasma (ou le sérum) est utilisé dans le cas de virus extra-cellulaire ; si les virus sont dans les leucocytes, il faut d'abord centrifuger le sang avec du Ficoll pour récupérer les leucocytes.

Le prélèvement ainsi traité est inoculé à une culture cellulaire (surnageant de centrifugation, plasma, leucocytes, etc.). Les cellules sont des cellules permissives pour le virus à cultiver et sont arrivées à confluence en monocouche. Elles sont observées au microscope inversé avant inoculation pour vérifier cet état. Le milieu de culture contient des antibiotiques mais pas d'antifongiques qui sont toxiques pour les cellules.

Après inoculation, les cultures sont incubées à 37 °C sous 10 % de CO_2. Le temps de culture varie avec le type de virus.

La présence du virus dans les cellules peut être révélée soit par mise en évidence d'un effet cytopathogène (cytopathique), soit par identification d'antigènes viraux.

L'effet cytopathogène est observé au microscope inversé, les cellules infectées sont modifiées et souvent se détachent du support. Lorsque le matériel le permet (culture sur lame), une coloration peut être réalisée pour visualiser d'éventuelles inclusions nucléaires ou cytoplasmiques. L'effet peut être quantifié de – à 4 + en fonction du pourcentage de cellules infectées.

La recherche et l'identification des antigènes viraux se font par une technique immuno-enzymatique, en utilisant des anticorps spécifiques conjugués à une enzyme catalysant une réaction colorée. Après addition des anticorps conjugués, lavage, addition du substrat chromogène, le tapis cellulaire est observé au microscope inversé. La structure cellulaire qui héberge le virus se trouve colorée par le produit libéré par l'enzyme. Cette technique permet d'identifier et de typer le virus alors que la mise en évidence de l'effet cytopathogène ne donne, le plus souvent, qu'une identification de la famille.

10. Parmi ces parasites, on distingue :

– une amibe intestinale, *Entamoeba coli*, protozoaire (unicellulaire) qui peut se présenter sous forme végétative ou sous forme kystique. La taille du kyste dépend du nombre de noyaux car, à l'intérieur de la coque du kyste, l'amibe se divise. Un kyste mûr mesure de 15 à 30 µm ;

– un sporozoaire de la famille des Hémosporidies (hématozoaire), le *Plasmodium falciparum*, qui passe une partie de son existence dans les hématies. La forme trophozoïte est une forme unicellulaire de 2 à 3 µm ;

– un œuf d'helminthe, trématode du genre *Shistosoma* de l'espèce *haematobium*. Les adultes vivent dans le système veineux, les œufs sont pondus dans des vaisseaux de petit diamètre et migrent vers la vessie où ils pénètrent par effraction. On les retrouve dans l'urine. Ces œufs mesurent 150 µm de long sur 60 µm de large.

– deux vers adultes :

  - un nématode intestinal, *Enterobius vermicularis* dont la femelle fécondée migre vers le rectum et pond sur la marge anale. Ce ver adulte, parfois retrouvé dans les selles, mesure 9 à 12 mm de long;
  - un cestode intestinal, *Taenia saginata* ou ver solitaire, au corps segmenté, fixé à la muqueuse intestinale par des ventouses et dont on peut retrouver des anneaux isolément en dehors de la défécation. Il mesure 4 à 12 m de long.

Immunologie – Sérologie

11. Antigènes érythrocytaires

Parmi les nombreux systèmes d'antigènes érythrocytaires on peut citer :

– les antigènes du système ABO : antigènes A et B ;

– les antigènes du système Rhésus : antigènes D, C, E, c, e ;

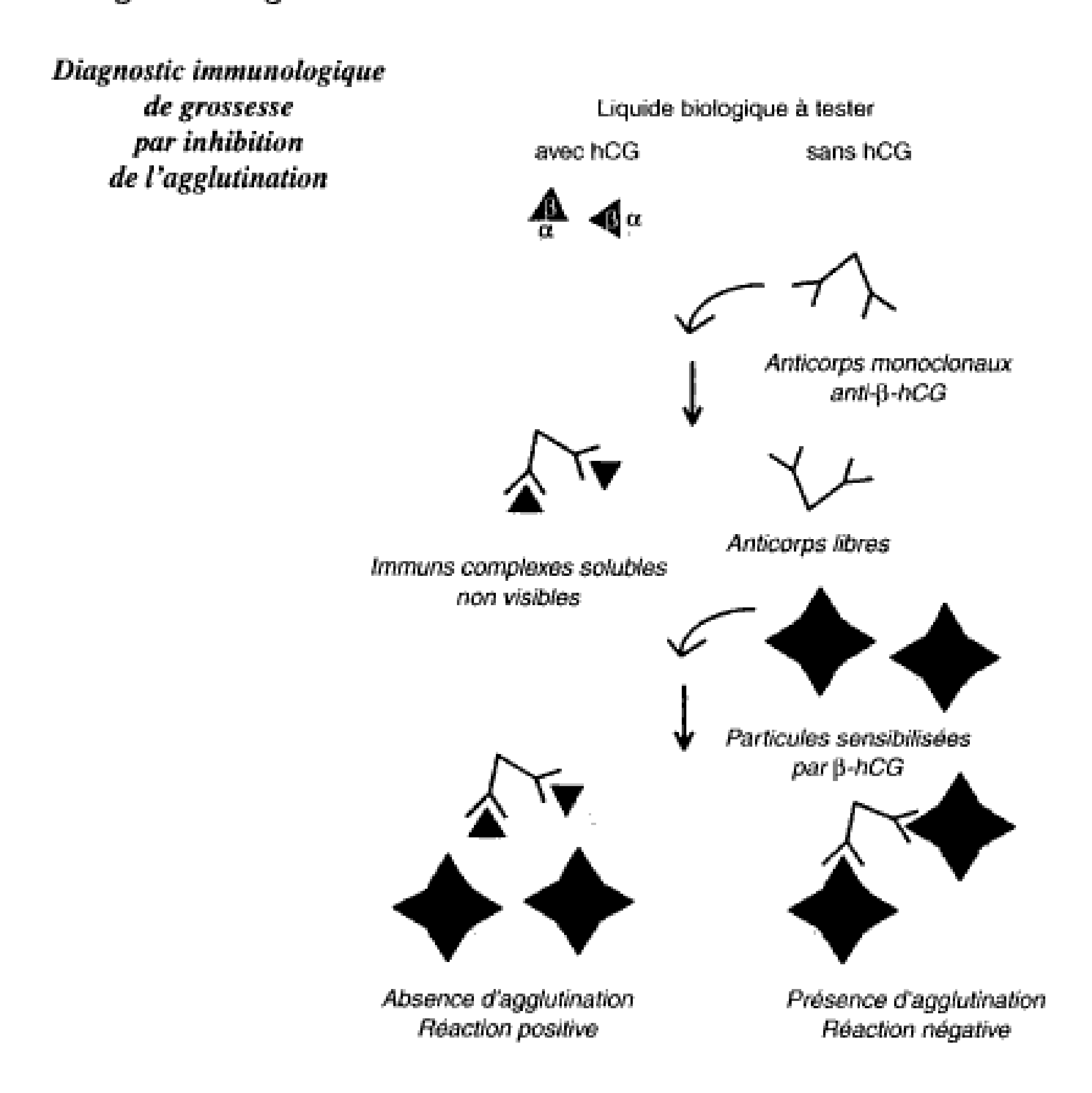
– les antigènes du système Kell : antigènes K et k ;

– les antigènes du système Duffy : antigènes Fy^a et Fy^b ;

– les antigènes du système Lewis : antigènes Le^a et Le^b ;

– les antigènes du système Kidd : antigènes Jk^a et Jk^b.

12. Diagnostic de grossesse



Le diagnostic immunologique de grossesse peut être réalisé par une technique d'inhibition de l'agglutination. On recherche la présence de l'hormone gonadochorionique (hCG) dans le liquide biologique (sérum ou urine) à tester. Ce liquide est mis en présence d'anticorps monoclonaux anti-β-hCG (dirigés contre la chaîne β de l'hormone, qui est la plus spécifique), puis on ajoute des particules (hématies ou particules de latex) sensibilisées par des molécules de β-hCG. Une absence d'agglutination des particules sensibilisées traduit la présence de β-hCG dans le liquide analysé.

13. Mononucléose infectieuse

Le sérodiagnostic de la mononucléose infectieuse peut être réalisé par la réaction de Paul Bunnell et Davidsohn. C'est une réaction d'agglutination qui met en évidence la propriété des anticorps retrouvés dans cette affection d'agglutiner les globules rouges de mouton, d'être adsorbés par les globules rouges de bœuf, de ne pas être adsorbés par les cellules de rein de cobaye.

Le résultat du jour J est au-delà de la limite d'acceptabilité. Il s'inscrit dans la dérive constatée, donc la série de dosages ne peut pas être validée.

22. Pour déterminer la glycémie le patient doit être à jeun depuis au moins dix heures pour avoir une glycémie stable.

Le prélèvement sera effectué sur antiglycolytique ou par une séparation rapide du sérum (plasma) pour éviter la consommation de glucose par les éléments figurés.

23. Définitions.

- Cholestase : diminution ou arrêt de la sécrétion biliaire, conséquence de l'obstruction ou de la compression des voies biliaires.
- Insuffisance hépatocellulaire : diminution ou arrêt de l'activité des hépatocytes.
- Cytolyse : lésion des cellules avec libération du contenu cellulaire (enzymes, etc.).

Paramètres biochimiques modifiés :

Syndrome	Paramètre plasmatique	Sens de variation	Justification
Cholestase	Bilirubine conjuguée PAL, 5'Nu, γGT	↑	Diffusion de la bile vers le plasma
Insuffisance hépatocellulaire	Albumine, fibrinogène, taux de prothrombine, transferrine	↓	Diminution des synthèses
	Ammonium Urée	↑	Diminution de l'uréogenèse
	Clairance de la BSP	↓	Diminution de la captation
Cytolyse	ALT, AST, LDH(5), OCT, GLDH	↑	Libération par lyse

24. L'hormone antidiurétique (ADH ou vasopressine), libérée par la neurohypophyse, augmente la perméabilité à l'eau des tubes collecteurs de Bellini. Elle favorise également la réabsorption d'eau sous l'influence du gradient de concentration, donc elle diminue l'élimination urinaire.

Hématologie – Histologie – Cytologie

25. Une coloration trichrome couramment utilisée en histologie est la coloration à l'hémalun-phloxine-safran (HPS).

L'hémalun colore les noyaux en bleu. La phloxine colore les cytoplasmes et les fibres élastiques en rose. Le safran colore le collagène en jaune.

Il faut réhydrater les coupes car la paraffine et les solvants des colorants ne sont pas miscibles. Pour effectuer cette opération, on déparaffine à l'aide d'un solvant (méthyl-cyclohexane) puis on immerge les coupes dans des bains d'alcool de plus en plus dilué et enfin dans de l'eau.

26. Myélémie : présence dans le sang de cellules immatures de la lignée granuleuse.

Hématies :

taille

forme

coloration

Plaquettes :

nombre

taille

répartition

3. Le temps de saignement explore la totalité de l'hémostase primaire. Il est donc allongé en cas de thrombopénie, de thrombopathie, de déficit majeur en fibrinogène ou de déficit en facteur de Willebrand. Attention, une prise d'aspirine allonge le temps de saignement.

Le nombre de plaquettes étant normal et tous les autres tests d'exploration de l'hémostase étant également normaux, il faut s'orienter (en l'absence de prise d'aspirine) vers une thrombopathie.

4. Temps de Quick = plasma citraté + thromboplastine calcique (B).

TCA = plasma citraté + céphaline kaolin (C) + chlorure de calcium (A).

5. Une carence en fer entraîne une anémie (taux d'hémoglobine inférieur à la normale) microcytaire (VGM < 80 fL) et/ou hypochrome (CCMH < 300 g/L). Dans tous les cas la TGM est diminuée.

Une carence en fer se définit comme une diminution de la quantité totale de fer dans l'organisme. Le diagnostic est confirmé par une diminution du taux de ferritine sérique, reflet des réserves en fer de l'organisme.

6. Les corps d'Auer sont rencontrés dans les myéloblastes de certaines leucémies aiguës myéloïdes (M2, M3, M4 et M6).

7. Coloration de Papanicolaou

- Étapes de 1 à 4 : réhydratation du frottis pour permettre l'action de l'hématoxyline qui est en solution aqueuse.
- Étapes 18 à 23 : déshydratation du frottis pour rendre possible l'observation avec un éventuel montage d'une lamelle.
- L'hématoxyline colore les noyaux.
- L'orangé G6 et l'EA50 (ou EA36) colorent les cytoplasmes.

Biochimie

8. La pression oncotique du plasma correspond à la pression due aux protéines plasmatiques. Au niveau des tissus, la pression hémodynamique provoque une filtration du plasma en direction des tissus. Mais les protéines restées dans les capillaires assurent une pression permettant le rappel du liquide interstitiel vers la circulation générale. L'abaissement de la pression oncotique ne permet plus com-

plètement ce retour vers les capillaires et la circulation générale, ce qui provoque l'accumulation de liquide dans les tissus (œdème).

9. Les reins permettent :
- la réabsorption des hydrogénocarbonates ;
- la formation d'hydrogénocarbonates qui passent dans l'urine ;
- la formation d'H^+ qui passent dans l'urine ;
- la formation de NH_3 à partir de glutamine essentiellement; NH_3 passe dans l'urine, fixe les H^+ (NH_4^+) évitant une acidification trop importante de l'urine.

10. Lors d'un jeûne glucidique, la glycolyse ne fonctionne pas, donc la carboxylation du pyruvate en oxaloacétate n'a pas lieu. Or, l'oxaloacétate permet d'initier le cycle de Krebs. De plus, l'oxaloacétate existant est détourné vers la néoglucogenèse. L'acétyl coA produit lors du catabolisme des acides gras est transformé en corps cétoniques.

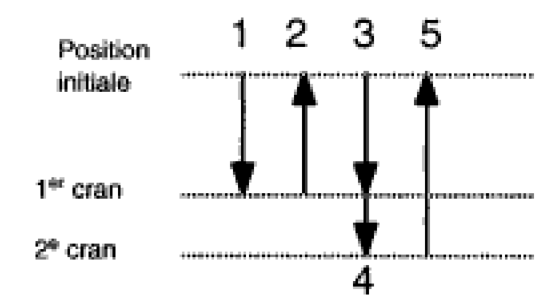
11. Monter le cône approprié sur l'embout porte-cône de la pipette. Pour effectuer ce raccordement de façon étanche, appuyer fermement le cône sur l'embout en imprimant un mouvement de rotation.

Mode direct :

Presser le bouton poussoir jusqu'à la première butée positive (1).

Tout en maintenant la pipette verticale, introduire l'extrémité du cône (2 à 4 mm) dans l'échantillon à prélever.

Relâcher lentement le bouton poussoir pour aspirer l'échantillon (2).



Attendre 1 ou 2 secondes et retirer le cône du liquide. Essuyer éventuellement les gouttelettes de liquide qui pourraient adhérer sur les parois extérieures du cône en prenant soin de ne pas toucher l'orifice du cône.

Pour expulser l'échantillon, placer l'extrémité du cône à un angle de 10 à 45 degrés contre la paroi interne du tube récepteur et presser doucement le bouton poussoir jusqu'à la première butée positive (3), attendre 1 à 2 secondes, puis presser complètement le bouton poussoir afin d'expulser la dernière fraction de liquide (4).

Le bouton poussoir étant complètement pressé, retirer la pipette tout en glissant le cône le long de la paroi du tube récepteur. Relâcher le bouton poussoir (5).

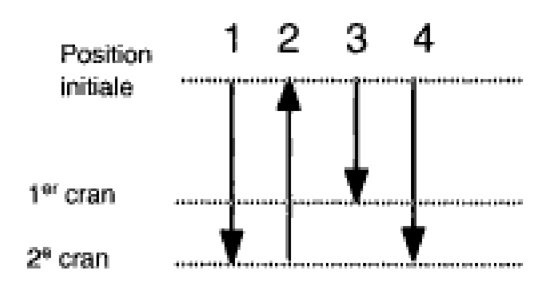
Éjecter le cône souillé en pressant le bouton qui commande l'éjecteur.

Mode indirect :

Presser le bouton poussoir jusqu'à la deuxième butée (1).

Tout en maintenant la pipette verticale, introduire l'extrémité du cône (2 à 4 mm) dans l'échantillon à prélever.

Relâcher lentement le bouton poussoir pour aspirer l'échantillon (2).



Attendre 1 ou 2 secondes et retirer le cône du liquide. Essuyer éventuellement les gouttelettes de liquide qui pourraient adhérer sur les parois extérieures du cône en prenant soin de ne pas toucher l'orifice du cône.

Pour expulser l'échantillon, placer l'extrémité du cône à un angle de 10 à 45 degrés contre la paroi interne du tube récepteur et presser doucement le bouton poussoir jusqu'à la première butée positive (3). Retirer la pipette tout en glissant le cône le long de la paroi du tube récepteur.

Vider le cône dans un « récipient déchet » en pressant complètement le bouton poussoir afin d'expulser la dernière fraction de liquide (4).

Éjecter le cône souillé en pressant le bouton qui commande l'éjecteur.

Prérinçage du cône :

Lors du pipetage du sérum, une certaine rétention de liquide peut s'observer sur la paroi interne du cône. Ce « film » résiduel peut créer une erreur dont la valeur excède la tolérance. Comme ce film, une fois formé, reste relativement constant d'un pipetage à l'autre avec un même cône, il est recommandé, afin d'obtenir une excellente précision, de remplir une deuxième fois le cône et d'utiliser cette deuxième quantité comme échantillon.

En outre, il faut utiliser des gants pour travailler avec le sérum.

12. Patient présentant une détresse respiratoire

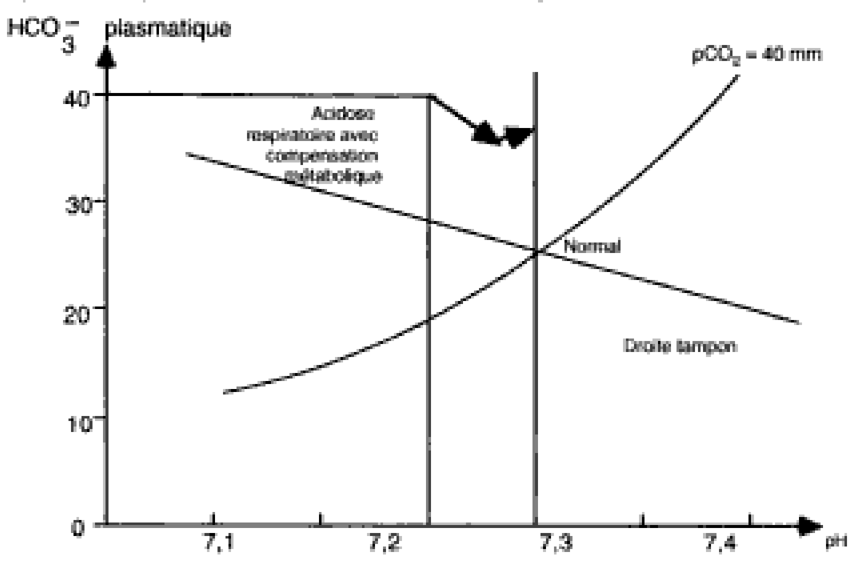
Connaissant le pH et la pCO_2, la concentration en HCO_3^- peut être déduite par calcul en utilisant l'équation d'Henderson :

$$pH = pK + \log \frac{[HCO_3^-]}{apCO_2}$$

Résultats sanguins		**Commentaire**	**Méthode de mesure**
pH	7,30	Acidose	
pCO_2	9	Hypercapnie, acidose ventilatoire sans doute	Électrode à membrane de Téflon
pO_2	7	Hypoxie d'origine ventilatoire confirmée	Électrode à O_2
HCO_3^-	40	Valeur très élevée	Obtenue par le calcul

Na^+	135	Normale	Photométrie de flamme, électrode spécifique
K^+	5,2	Normale	Photométrie de flamme, électrode spécifique
Cl^-	82	Valeur basse (balance avec hydrogénocarbonate vraisemblable)	Coulométrie

Diagramme de Davenport : sur le diagramme, les valeurs indiquent une acidose respiratoire compensée par une alcalose métabolique.



13. Paramètres à fixer pour un spectrophotomètre programmable :
- Longueur d'onde.
- Température.
- Temps d'attente sans mesure d'absorbance.
- Temps de mesure de l'absorbance.

14. Principe du dosage du cholestérol

Le cholestérol est entièrement transformé et la mesure est faite sur l'un des produits (la réaction est stœchiométrique).

$$\text{cholestérol estérifié} + H_2O \xrightarrow{\textit{cholestérol estérase}} \text{cholestérol} + \text{acide gras}$$

$$\text{cholestérol} + O_2 \xrightarrow{\textit{cholestérol oxydase}} \text{cholestérol oxydé} + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{phénol} + \text{amino-4-antipyrine} \xrightarrow{\textit{peroxydase}} \text{quinonéimine} + 4\ H_2O$$

15. Le pictogramme indique que cette solution est corrosive.

R : concerne les risques (précision sur la nature du risque).

S : concerne la sécurité (consignes particulières de sécurité à observer).

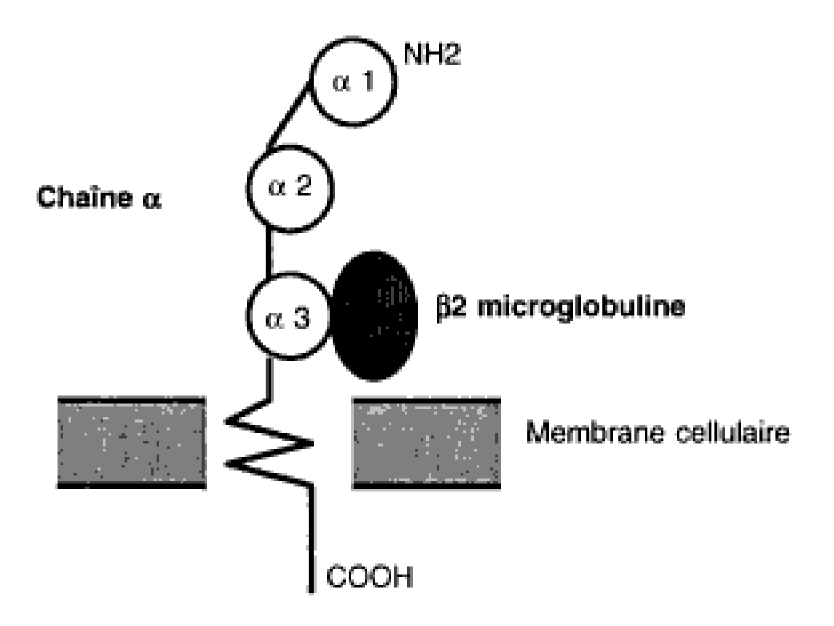
Immunologie

16. Molécules HLA de classe I :

Glycoprotéine constituée de deux chaînes polypeptidiques liées de façon non covalente :

- une chaîne lourde α très polymorphe, comprenant trois régions, une partie extra-membranaire (avec trois domaines), une partie transmembranaire et une autre intracytoplasmique ;
- une chaîne légère, β2 microglobuline, commune à toutes les molécules HLA de classe I, uniquement extra cellulaire.

Schématiquement :



Localisation des molécules HLA de classe I

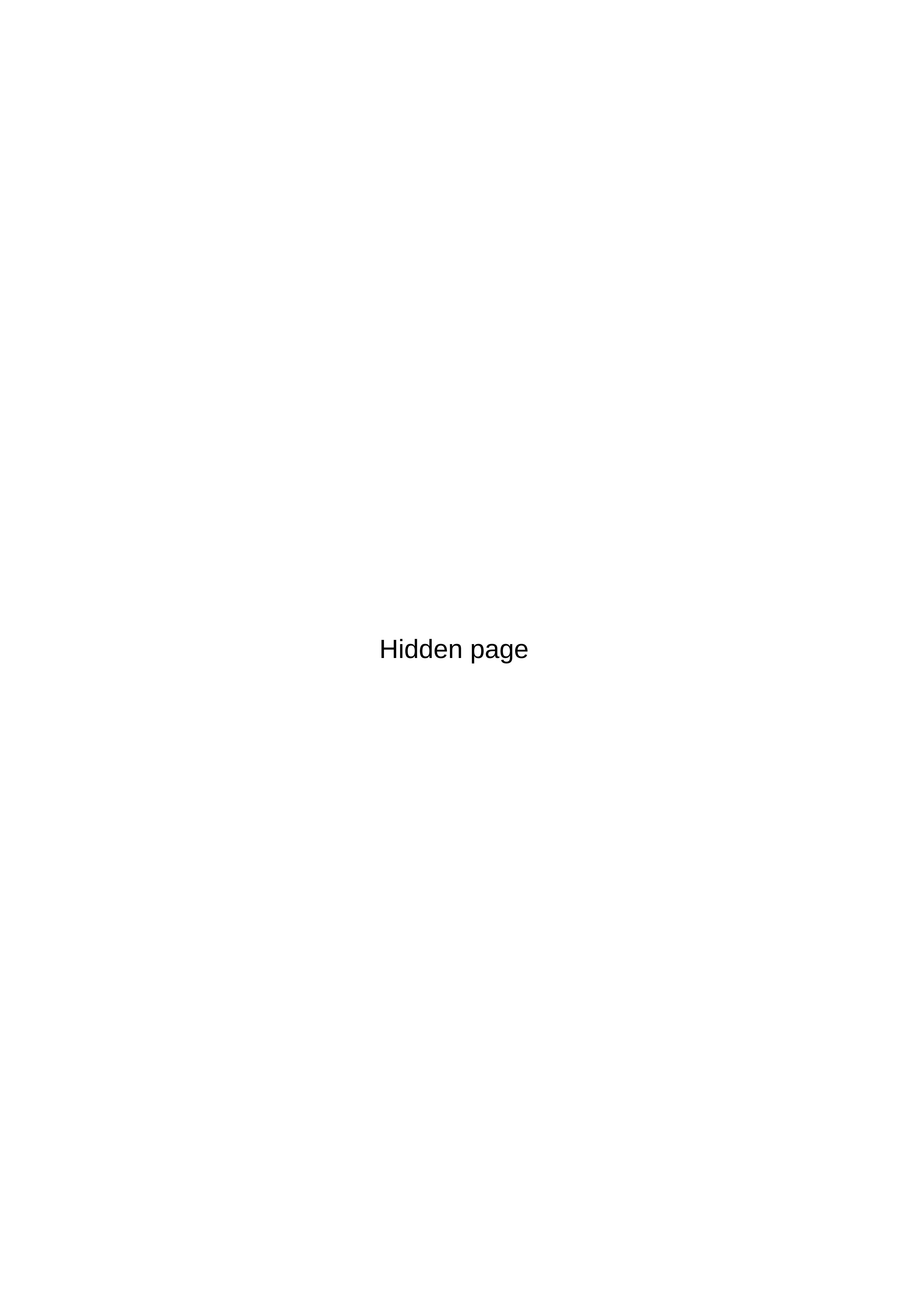
Structures membranaires présentes pratiquement sur toutes les cellules nucléées de l'organisme, elles existent aussi sous forme soluble dans les liquides biologiques.

17. Traitements préalables des sérums lors de la réalisation d'une réaction d'inhibition de l'hémagglutination pour le diagnostic d'une rubéole :

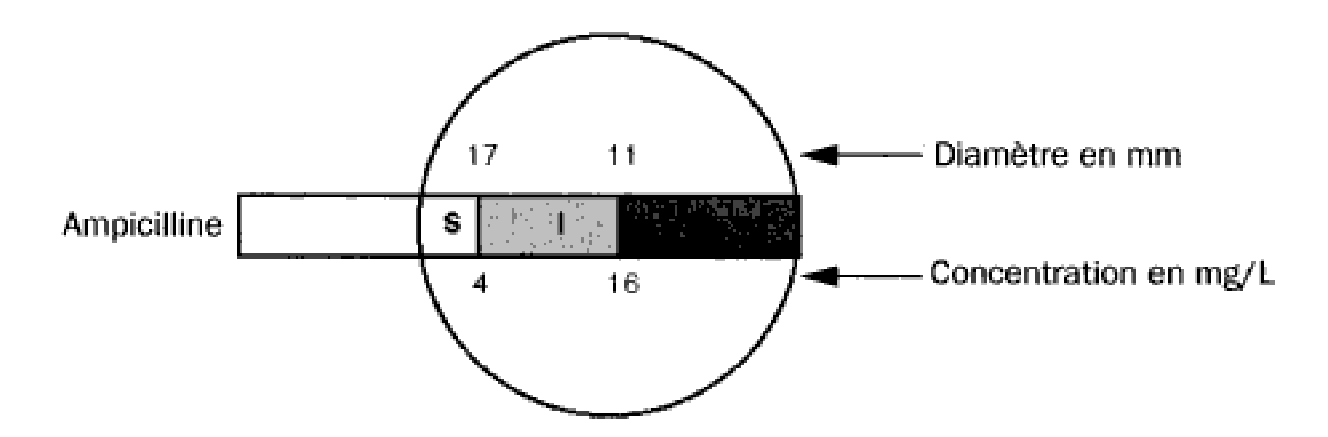
- Traitement par le kaolin (ou dextran) pour adsorber les inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination qui sont responsables de fausses réactions positives.
- Traitement par des globules rouges pour éliminer les hétéro-hémagglutinines, responsables de réactions faussement négatives.

18. Cyclosporine

La cyclosporine diminue la sécrétion, par les lymphocytes T, de l'interleukine 2 (Il2) et empêche leur activation. Elle est prescrite lorsqu'il est souhaitable de limiter les réactions immunitaires, donc principalement lors des greffes et transplantations, pour prévenir le rejet du greffon par le système immunitaire de l'hôte ou encore pour éviter le rejet de l'hôte par le greffon (GVH) lors de greffe de moelle osseuse.


Hidden page

Abaque de lecture :



Si le diamètre est inférieur ou égal à 11 mm, la souche est dite résistante, sa CMI devrait être supérieure à 16 mg/L.

Si le diamètre est supérieur à 11 mm et inférieur ou égal à 17 mm, la souche est dite intermédiaire, sa CMI devrait être comprise entre 4 et 16 mg/L.

28. Le bleu Trypan est un colorant qui ne peut rester dans une cellule que si celle-ci est morte, c'est un colorant d'exclusion. Il permet donc de différencier les cellules vivantes incolores des cellules mortes colorées en bleu.

La suspension cellulaire est diluée en bleu Trypan au 1/2 (0,1 cm^3 + 0,1 cm^3). On compte les cellules dans 1 mm^3 donc dans 10^{-3} cm^3 : $N = 200 \times 2 \times 10^3 = 4 \times 10^5$ cellules/cm^3.

Pour obtenir 2×10^5 cellules/cm^3, il faut diluer la suspension cellulaire au 1/2 et donc ajouter 8 cm^3 de milieu neuf au 8 cm^3 de suspension cellulaire.

29. Le virus de l'hépatite A est un virus résistant ; non enveloppé, il peut donc rester infectant hors de l'organisme et particulièrement dans l'eau contaminée par des matières fécales. La contamination par le virus de l'hépatite A se fait par voie orale.

Le virus de l'hépatite B est un virus enveloppé donc fragile ; il ne résiste pas dans le milieu extérieur. La contamination par le virus de l'hépatite B se fait donc par contact direct : par inoculation (transfusion par exemple) ou par contact sexuel.

30. Pour diagnostiquer le paludisme, on effectue un frottis sanguin, de préférence capillaire, coloré par le May-Grünwald Giemsa.

Le parasite intra-érythrocytaire est recherché. On note la présence de différents stades de maturation : trophozoïte, schizonte, gamétocyte. On note l'aspect de chaque stade et la présence de pigment.

Les hématies parasitées peuvent prendre des aspects variables selon l'espèce de *Plasmodium* : taille, forme et coloration, présence de granulations de Schüffner, de Maurer.

Le nombre de trophozoïtes par hématie est un critère de diagnostic.

L'aspect général du frottis, monotone, riche en parasites, permet de compléter le diagnostic.

31. Pour effectuer l'analyse mycologique d'une lésion cutanée à dermatophyte, il faut prélever les squames en périphérie de la lésion circulaire car le champignon a une croissance centrifuge et les formes jeunes se trouvent donc en périphérie.

32. Pour faire un examen microscopique direct des squames, des ongles et des cheveux, il nécessaire de les éclaircir, de les rendre transparents pour visualiser les filaments mycéliens se trouvant à l'intérieur.

Pour cela on les traite par de la potasse à 30 % ou du lactophénol et du chloral.

TECHNOLOGIES D'ANALYSE BIOMÉDICALE 1998

Immunologie

1. Méthodologie d'une réaction ELISA de type « sandwich » appliquée à la recherche d'un antigène soluble dans un sérum

Les différentes étapes :

– l'anticorps spécifique de l'antigène à rechercher est fixé sur un support ;

– mise en contact du support avec le sérum à tester ;

– après incubation puis lavages, ajout d'un anticorps, dirigé contre l'antigène recherché, couplé à une enzyme ;

– après incubation puis lavages, addition du substrat chromogène de l'enzyme ;

– après blocage de la réaction enzymatique, lecture par mesure de la coloration.

2. Sérodiagnostic de la rubéole

Les IgM sont recherchées :

– chez la femme enceinte pour différencier une primo-infection rubéolique (IgM+), dangereuse pour le fœtus, d'une rubéole de réinfection (IgM–) qui est sans danger ;

– chez le nouveau-né, pour diagnostiquer une rubéole congénitale (IgM+).

Le traitement du sérum, préalablement à la réalisation d'une réaction d'inhibition de l'hémagglutination, a pour but d'éliminer les inhibiteurs non spécifiques (à l'origine de fausses réactions positives) ainsi que les hétéro-hémagglutinines non spécifiques (à l'origine de fausses réactions négatives).

3. Tests présomptifs de grossesse

Lors de ces tests on recherche la présence, dans les liquides biologiques, de l'hormone gonadotrope chorionique (HCG), cette hormone apparaissant dès le début de la grossesse.

Les anticorps monoclonaux ont permis d'obtenir une plus grande spécificité des réactions : on utilise des anticorps monoclonaux anti-β-HCG qui reconnaissent uniquement la chaîne β de l'hormone, c'est-à-dire la seule chaîne spécifique de l'HCG.

4. Rôle des organes lymphoïdes primaires

Effets sur le système immunitaire	Bursectomie	Thymectomie
Taux de lymphocytes circulants	– (ou **n**)	–
Plasmocytes	0	–
Taux d'immunoglobulines sériques	0	–
Synthèse d'anticorps spécifiques : – anti-LPS – antitétaniques	 0 0	 n –
Rejet d'allogreffe	n	0

n = situation normale d'un animal non traité.

+ = augmentation par rapport à la situation normale.

– = diminution par rapport à la situation normale.

0 = annulation par rapport à la situation normale.

Chez l'homme, c'est la moelle osseuse qui est l'équivalent de la bourse de Fabricius.

Microbiologie

5. *Neisseria meningitidis* est un coque à Gram négatif. Il se présente le plus souvent sous forme de diplocoques accolés par une face aplatie (en grains de café), plus rarement en tétrades.

On le trouve le plus souvent dans les LCR, les hémocultures et les prélèvements de gorge.

6. Les mycoplasmes sont des bactéries sans paroi rigide, leur cytoplasme n'est limité que par une membrane cytoplasmique. Les deux *Mycoplasmataceae* responsables d'infections génitales humaines sont *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum*, mais ces bactéries semblent être des commensales du tractus génital. Il est donc parfois très difficile de les rendre responsables d'une pathologie génitale.

Ces bactéries ont la particularité d'adhérer fortement aux cellules épithéliales de la muqueuse. Il faudra donc recueillir un grand nombre de cellules épithéliales lors du prélèvement pour espérer obtenir une culture positive.

7. Des colonies jaunes sur milieu CLED, qui contient du lactose et du bleu de bromothymol, montrent la présence de bactéries ayant acidifié le milieu et donc lactose positives.

Le test rapide de recherche de la β-glucuronidase utilise un substrat chromogène incolore, l'orthonitrophényl β-glucuronide. Les bactéries qui possèdent l'enzyme

18. Centrifugation des prélèvements sanguins

Surnageant	Origine	Caractère	Précautions
Lactescent	Présence de chylomicrons	Prélèvement à jeun ou pathologie	Réalisation de témoins Échantillon
Ictérique	Présence de bilirubine	Toujours pathologie	Réalisation de témoins Échantillons
Hémolysé	Présence d'hémoglobine	Erreur de prélèvement ou de conservation ou pathologie	L'hémolyse rend impossibles certains dosages

19. Formule générale d'un glycérophospholipide et site d'action de la phospholipase D.

$CH_2O-C(=O)-R_1$
$|$
$CHO-C(=O)-R_2$
$|$
$CH_2O-P(=O)(OH)-X$

Action de la phospholipase D (liaison P — X)

Le substituant X peut être un des amino-alcools figurant dans le tableau ci-dessous.

Nom	Amino-alcool	Phospholipide correspondant
Choline	$HO-CH_2-CH_2-N^+(CH_3)_3$	Lécithine Phosphatidylcholine
Sérine	$HO-CH_2-CH(COO^-)(NH_3^+)$	Phosphatidyl sérine
Éthanolamine	$HO-CH_2-CH_2-NH_2$	Phosphatidyl éthanol amine

20. La détermination enzymatique des phospholipides est un dosage de substrat donc la solution de travail est composée des enzymes de toutes les réactions ainsi que du chromogène : phospholipase D, choline oxydase, peroxydase, phénol, amino-4-antipyrine.

21. Le dosage correspond à la méthode en point final car le temps est long (10 min) et n'est pas mesuré précisément.

22. Ordre de grandeur de l'absorbance si la limite de linéarité est atteinte

$$A = \varepsilon \,.\, l \,.\, C \,.\, \frac{E}{Vt}$$

ε : coefficient d'absorbance molaire ($m^2.mol^{-1}$).

l : longueur de la cuve (m).

C : concentration ($mol.m^{-3}$).

E : prise d'essai (m^{-3}).

Vt : volume total réactionnel (m^3).

Application numérique :

$$A = 1\,360 \times 10^{-2} \times 10 \times \frac{10 \times 10^{-9}}{1\,010 \times 10^{-9}} = 1{,}346 \approx 1{,}4$$

23. Les phospholipides sont associés aux lipoprotéines du fait de leur insolubilité.

Hématologie

24. Chez cet homme adulte, on trouve :

HGB 113 g/L	< 130 g/L	donc anémie
VGM 110 fL	> 100 fL	donc macrocytose
MCHC 331 g/L	entre 320 et 340 g/L	donc normochromie
MCH 36,4 pg	> 32 pg	augmentée, ce qui s'explique par la macrocytose
RDW 18,9 %	> 15 %	anisocytose

Il s'agit donc, chez cet homme adulte, d'une anémie macrocytaire normochrome.

L'histogramme de distribution des hématies montre une macrocytose (pic vers 110 fL) et une anisocytose (histogramme plus étalé que l'histogramme normal).

25. Une anémie régénérative est une anémie (concentration du sang en hémoglobine inférieure aux valeurs de référence) au cours de laquelle la moëlle répond à la sécrétion accrue d'érythropoïétine. L'érythropoïèse étant stimulée, le nombre de réticulocytes dans la circulation augmente. L'examen nécessaire au diagnostic d'anémie régénérative est donc la numération des réticulocytes. En cas d'anémie, un nombre de réticulocytes supérieur à 120.10^9/L permet de conclure que celle-ci est régénérative.

26. Une thalassémie est une maladie héréditaire due à une anomalie (mutation, délétion, etc.) d'au moins un gène codant pour l'une des chaînes de l'hémoglobine. L'anomalie en question entraîne la diminution ou l'absence de synthèse par le gène atteint de la chaîne d'hémoglobine correspondante.

Dans l'α+ thalassémie, deux ou trois gènes sur les quatre codant pour la chaîne α de l'hémoglobine sont atteints. La chaîne α de l'hémoglobine est synthétisée par le

2.2. Équations.

$$H_3^+N-CH(CH_2SH)-COOH \underset{H_3O^+ \quad H_2O}{\overset{H_2O \quad H_3O^+}{\rightleftharpoons}} H_3^+N-CH(CH_2SH)-COO^- \underset{H_3O^+ \quad H_2O}{\overset{H_2O \quad H_3O^+}{\rightleftharpoons}} H_3^+N-CH(CH_2S^-)-COO^- \underset{H_3O^+ \quad H_2O}{\overset{H_2O \quad H_3O^+}{\rightleftharpoons}} H_2N-CH(CH_2S^-)-COO^-$$

pK_1 pK_R pK_2

$pHi = 1/2\ (pK_1 + pK_2)$

$pHi = 1/2\ (1{,}71 + 8{,}33) = 5{,}02$

2.3. La résine substituée par des groupements sulfonates est échangeuse de cations quel que soit le pH d'élution.

La charge nette de chaque acide aminé dépend de son pHi et du pH du tampon.

La charge relative de chaque acide aminé est résumée dans le tableau ci-dessous.

pH		pHi_{Glu}		pHi_{Cys}		pHi_{Lys}	
Glu	+	0	–		– –		– – –
Cys	++		+	0	–		– –
Lys	+++		++		+	0	–

L'ordre d'élution : Glu, Cys, Lys.

3. Le prélèvement sera effectué sur du sang artériel ou du sang capillaire « artérialisé ».

Éviter les échanges avec l'air et respecter la thermostatisation sont les conditions à respecter en vue de l'analyse du pH et des gaz du sang.

4. Un canal voltage–dépendant est un canal ionique dont l'ouverture dépend de la polarisation de la membrane (canal qui s'ouvre en réponse à des modifications du potentiel membranaire) :

– canaux à Na^+ et canaux à K^+ sur l'axone des neurones ;

– canaux à Ca^{2+} au niveau de la terminaison axonale présynaptique ;

– canaux à Ca^{2+} au niveau du réticulum sarcoplasmique.

5.1. Le lieu de synthèse des sels biliaires est le foie (hépatocytes).

Leur rôle dans la digestion est détergent. Ils solubilisent les lipides, ce qui permet un meilleur accès des lipases à leurs substrats.

Le lieu d'action est l'intestin grêle.

5.2. Hormones stéroïdes.

Hormones	Rôle(s)	Organe
Progestérone	Contrôle de la préparation et du maintien de la gestation	Ovaires
Œstrogènes	Participation à la régulation de la croissance et du développement. Contrôle le fonctionnement du système reproducteur féminin	
Cortisol	Stress	Glandes surrénales (cortex)

Autres hormones possibles : 1,25 dihydroxycholécalciférol, testotérone, etc.

6. Les substances absentes dans l'urine et dont l'élimination urinaire est nulle peuvent être classées en deux catégories :

– substances filtrées et réabsorbées : glucose, HCO_3^- ;
– substances non filtrées : albumine, lipides, cholestérol, bilirubine, molécules liées aux protéines plasmatiques.

Les NH_4^+, absents dans le plasma, sont sécrétés dans l'urine par les cellules du néphron.

Microbiologie

7. *Campylobacter jejuni*

7.1. *Campylobacter jejuni* est un bacille à Gram négatif, fin, incurvé en forme de virgule, en S ou prenant l'aspect d'un « vol de mouette ». Les formes longues prennent une forme hélicoïdale.

Mobile par ciliature polaire monotriche, sa mobilité est rapide et de type « vol de moucheron ».

7.2. L'exemple type est celui de *Shigella* mais d'autres entérobactéries ont le même comportement : *E. coli* entéro-adhérent (entéro-invasif), *Salmonella*, *Yersinia*, etc.

Shigella se fixe à la membrane des entérocytes grâce à des molécules d'adhésion ; cette fixation entraîne son internalisation dans une vacuole d'endocytose. La bactérie peut ainsi s'y multiplier, pénétrer sous l'épithélium et coloniser les entérocytes voisins. Cette multiplication entraîne une réaction inflammatoire, d'où la présence de pus et de mucus dans les selles.

8. *Neisseria gonorrhoeae* est responsable d'une infection sexuellement transmissible, la blennorragie, qui se traduit chez la femme par une cervicite (localisation la plus fréquente).

Le prélèvement est effectué au niveau de l'endocol. L'examen microscopique est indispensable; à la coloration de Gram on observe des diplocoques à Gram négatif le plus souvent intra cellulaires (dans le cytoplasme des granulocytes neutrophiles).

Le prélèvement est isolé sur une gélose chocolat enrichie en vitamines ou un milieu équivalent et incubé en présence de CO_2. Le même milieu additionné d'un mélange d'antibiotique (VCF) peut être utilisé en parallèle.

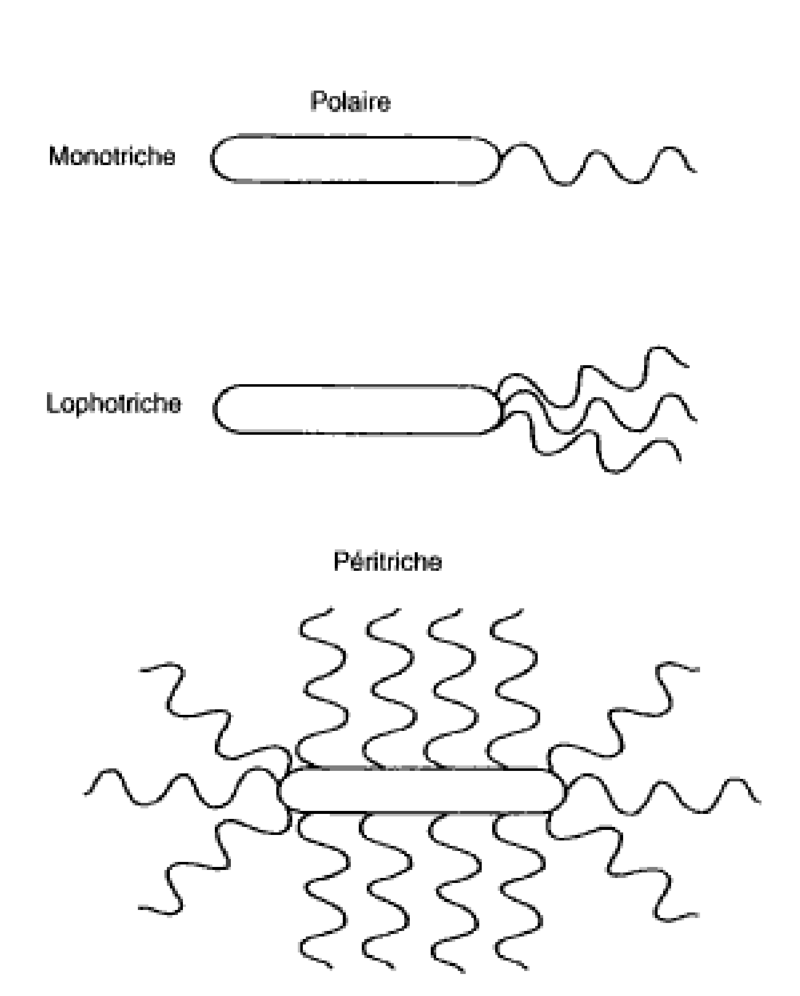
Les colonies sont de type S, de taille variable, le test oxydase est positif. L'identification est réalisée grâce à une galerie spécifique. La recherche de β lactamase permet de décider du traitement. L'antibiogramme est réalisé lorsque la β lactamase est positive et si un traitement par voie générale est envisagé.

9. Flagelles

9.1. Les flagelles sont de nature protéique.

9.2. Les ciliatures les plus souvent observées sont polaire (monotriche ou lophotriche) et péritriche.





9.3. La technique la plus couramment utilisée est l'examen à l'état frais : observation d'une goutte de culture en milieu liquide entre lame et lamelle. La gélose mobilité est moins utilisée et la coloration des cils ne l'est que très rarement.

10. Méningites

10.1. Les méningites à liquide trouble sont dues à la présence de bactéries pyogènes, les cellules phagocytaires (PN surtout) étant responsables du trouble. Les germes les plus fréquents sont *Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae*, chez le nouveau-né, *E. coli* K1, *Listeria, Streptococcus* B.

10.2. Le LCR à liquide trouble renferme un nombre de cellules supérieur à 10^3 par µL, essentiellement des PN. Le LCR à liquide clair ne contient qu'un nombre faible de cellules, souvent des lymphocytes ou une association PN et L (formule panachée).

11. La recherche d'antigènes solubles (molécules d'origine bactérienne) dans le surnageant du milieu liquide centrifugé permet le diagnostic rapide de certaines bactéries : *S. pneumoniae, H. influenzae, N. meningitidis*, etc.

Il existe des galeries miniaturisées à incubation courte (4 h) le diagnostic est fondé sur des réactions biochimiques rapides. Cette technique est pratiquée dans le cas d'hémoculture monomicrobienne et après examen microscopique.

12. Chaque antibiotique est présenté à deux concentrations : la concentration critique inférieure, concentration sérique obtenue lors d'un traitement à posologie classique, et la concentration critique supérieure, concentration sérique obtenue lorsque la posologie est maximale. Après ensemencement et incubation, on observe le trouble éventuel causé par la culture du germe.

Si la bactérie cultive dans les deux milieux (aux deux concentrations), elle est dite résistante, sa CMI est supérieure à la concentration critique supérieure, elle ne pourra être inhibée par cet antibiotique même utilisé à posologie maximale.

Si elle ne cultive que dans le milieu contenant l'antibiotique à la concentration critique inférieure, elle est intermédiaire, sa CMI est comprise entre les deux concentrations critiques, elle ne pourra être inhibée que par une posologie maximale.

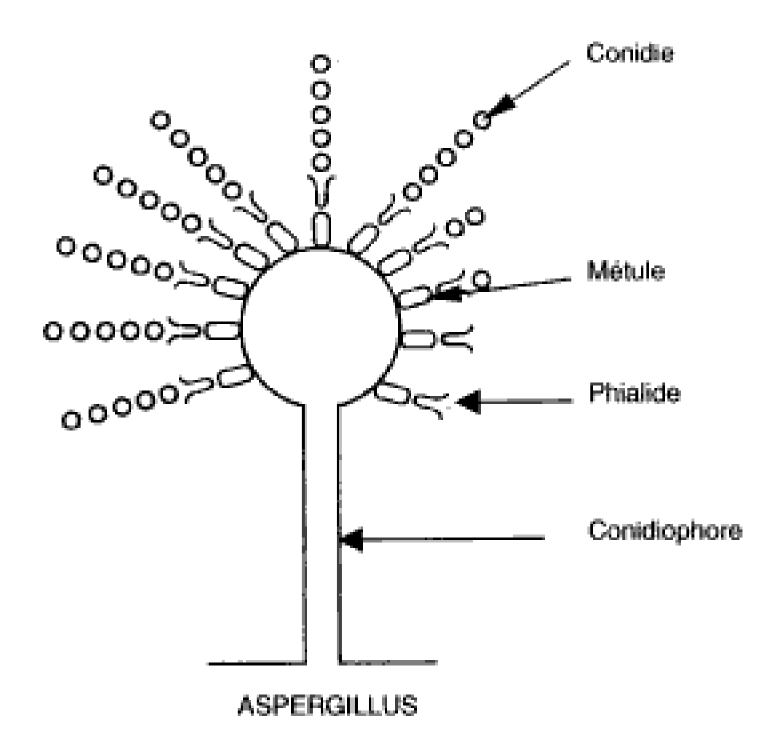
Si elle ne cultive dans aucun des deux milieux, elle est sensible, sa CMI est inférieure à la concentration critique inférieure, elle pourra être inhibée par une posologie classique.

13. *Plasmodium falciparum* a la particularité de ne se présenter dans le sang circulant que sous les formes trophozoïte et gamétocyte. Les autres stades ne se retrouvent que dans les capillaires profonds.

Sur le frottis, on note des hématies de taille normale, non déformées et pouvant contenir des taches de Maurer en petite quantité. Le trophozoïte est annulaire, de petite taille, sans pigment, le pluriparasitisme est fréquent. Le gamétocyte est en forme de saucisse ou de banane (en faux, d'où le nom du parasite) de grande taille, à cytoplasme bleu pour le gamétocyte femelle ou lilas pour le gamétocyte mâle et contenant du pigment. La présence de gamétocyte est inconstante. L'aspect général est monotone.

14. Appareil sporifère d'un *Aspergillus*

14.1. Schéma.



14.2. Les caractères différentiels reposent sur l'observation :

– du conidiophore, long, court, lisse, rugueux ;

– de la vésicule, taille, forme ;

– des métules et phialides, présence ou non ;

– des conidies, taille, couleur, aspect lisse, échinulé.

15.1. Le virus de la grippe est un virus à ARN à nucléocapside hélicoïdale; l'ensemble est entouré d'une enveloppe à la surface de laquelle se trouvent des spicules glycoprotéiques, des spicules d'hémagglutinines et de neuraminidases. Le virion est sphérique.

15.2. Les antigènes du virus de la grippe se modifient régulièrement à la suite de mutations du génome. Ces modifications sont le plus souvent mineures et progressives, on parle de glissement antigénique. Ces antigènes peuvent être reconnus par les anticorps de certains individus immunisés. L'épidémie reste ainsi localisée.

Dans certains cas, la variation antigénique est majeure et brutale, on parle de cassure antigénique. Les molécules sont totalement nouvelles et les populations ne possèdent pas d'anticorps correspondants. La diffusion de la maladie est alors très rapide et mondiale. Ces variations majeures sont dues à des réassortiments génétiques entre souches humaines et souches animales après mélange des deux souches virales dans une cellule vivante. Ce sont ces modifications qui sont à l'origine des pandémies.

Immunologie

16. Sérologie de la syphilis

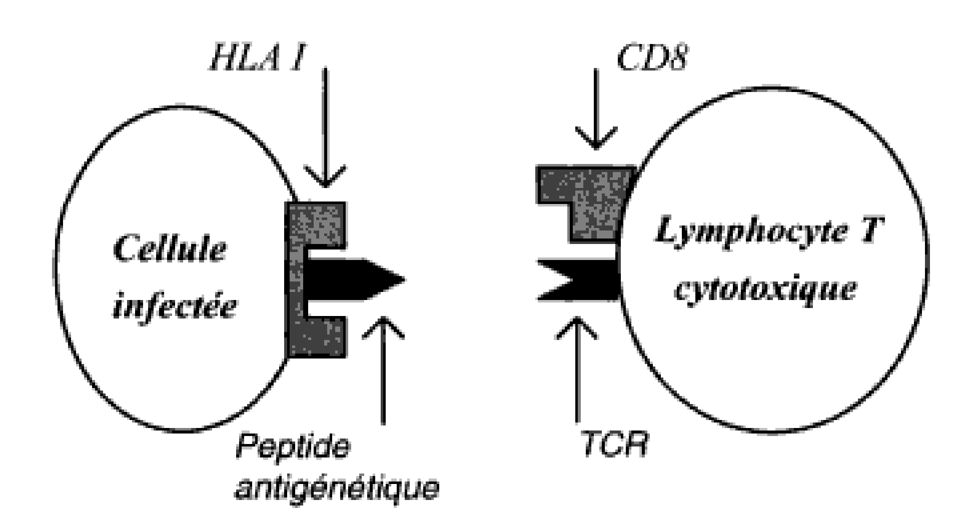
16.1. La technique du TPHA *(Treponema Pallidum Hemagglutination Assay)* est une réaction d'agglutination, plus précisément d'hémagglutination (agglutination de globules rouges) passive (les extraits antigéniques sont fixés sur les hématies).

16.2. L'antigène utilisé dans cette réaction est donc une suspension d'hématies sensibilisées par des extraits de *Treponema pallidum*.

16.3. Le sérum à tester est préalablement traité par un absorbant contenant un extrait de tréponème de Reiter. Ceci a pour but d'éliminer les éventuels anticorps anti-tréponémiques de groupe.

17. Lymphocytes T

17.1. La reconnaissance, par un lymphocyte T cytotoxique, d'une cellule infectée par un virus peut être représentée par le schéma suivant :





Les complémentarités schématisées permettent le contact entre la cellule cible (cellule infectée) et le lymphocyte T cytotoxique, assurant ainsi le phénomène de reconnaissance.

17.2. Le lymphocyte T cytotoxique (LTc), spécifique de l'antigène présent à la surface de la cellule infectée, va provoquer, après activation, la lyse de la cel-

lule cible. La cytotoxicité s'exerce par divers mécanismes résultant de la libération, dans l'espace intercellulaire, du contenu des granules cytoplasmiques du LTc activé : enzymes lytiques et perforine en particulier. Ces substances toxiques vont provoquer la mort de la cellule cible par :

– nécrose cellulaire : lésions membranaires entraînant un choc osmotique ;

– apoptose : destruction de la cellule par dégradation de ses constituants, nucléaires surtout, induisant une fragmentation du noyau.

18. Le groupage Rhésus standard

Lors du groupage Rhésus standard, tout résultat négatif ou douteux doit être suivi d'une recherche de l'antigène D^u.

L'identification des sujets possédant un tel antigène permet de prévenir les risques d'allo-immunisation. Celle-ci pourrait se produire lors de la transfusion de sang de ces porteurs à des sujets Rhésus négatif.

19. La vaccination, ou immunité artificielle active, est une prophylaxie obtenue par immunisation d'un sujet à l'aide d'un antigène. Celui-ci est constitué d'une souche bactérienne ou virale, tuée ou inactivée, ou d'extraits de micro-organismes ou encore, d'un antigène obtenu par génie génétique.

Le vaccin DT polio (antidiphtérique, antitétanique, antipoliomyélitique) contient les éléments suivants :

– anatoxine purifiée de *Corynebacterium diphteriae* ;

– anatoxine purifiée de *Clostridrium tetani* ;

– virus tué ou vivant atténué de la poliomyélite.

Remarque : un adjuvant est associé à ces produits vaccinaux.

20. Le dosage des apoprotéines sériques A1 et B par la technique de Laurell est une méthode de dosage par électro-immunodiffusion.

20.1. Les réactifs nécessaires à la réalisation de cette technique sont :

– un gel dans lequel les anticorps anti-Apo A1 et anti-Apo B ont été incorporés ;

– des étalons Apo A1 et Apo B ;

– le sérum à tester.

20.2. Le protocole opératoire comporte les principales étapes suivantes :

– préparation d'étalons de différentes concentrations ;

– dépôts des dilutions des étalons et du sérum à tester dans les puits du gel ;

– diffusion sous l'influence d'un champ électrique appliqué perpendiculairement à la ligne des puits.

20.3. La mesure de la hauteur des pics de précipitation obtenus à partir des étalons permet d'établir la correspondance entre cette hauteur et la concentration en Apo A1 et Apo B. On déduit, de cette correspondance et de la hauteur du pic du sérum, la teneur en Apo A1 ou en Apo B de ce sérum.

Hématologie

21. Leucémies aiguës

21.1. Les deux grands types de leucémies aiguës sont :

– les leucémies aiguës lymphoïdes (LAL) ;

– les leucémies aiguës myéloïdes (LAM).

21.2. Le résultat du myélogramme permet de confirmer le diagnostic de leucémie aiguë si :

– la moëlle est riche ;

– les blastes représentent plus de 30 % des cellules nucléées.

21.3. Pour différencier les deux types de leucémies aiguës, on réalise la recherche de la myéloperoxydase. Elle est positive dans les LAM (sauf la M_0 et la M_7). Elle est négative dans les LAL.

22. Les différents stades de la lignée granulocytaire neutrophile sont, dans l'ordre de maturation :

– promyélocyte neutrophile ;

– myélocyte neutrophile ;

– métamyélocyte neutrophile ;

– granulocyte neutrophile.

Remarque : le myéloblaste, précurseur de la lignée granulocytaire, peut se différencier en cellule neutrophile, éosinophile ou basophile.

23. Affinité tinctoriale azurophile

23.1. Les cellules sanguines qui comportent des granulations azurophiles sont les lymphocytes à grains et les monocytes.

23.2. Les éléments azurophiles réagissent avec un constituant du Giemsa, l'azur de méthylène, de couleur bleue, en donnant une coloration rouge. Il s'agit d'une coloration métachromatique.

24. Le test de falciformation est réalisé pour le dépistage de la drépanocytose hétérozygote ou trait drépanocytaire.

Dans ce cas, *in vivo*, dans des conditions normales, il n'y a pas de drépanocytes dans la circulation. *In vitro*, en milieu réducteur, sous une faible pression d'oxygène, l'hémoglobine S présente dans les hématies polymérise, malgré la présence d'hémoglobine A. Cette polymérisation de l'hémoglobine S déforme les hématies qui prennent alors un aspect falciforme.

Au microscope, les drépanocytes ou hématies falciformes apparaissent allongées, à extrémités pointues, droites ou recourbées.

25. L'International Normalized Ratio (INR)

25.1. Définition.

correctement diluée. Un témoin de culture sans sérum est réalisé. La série de tubes est incubée.

4.2. Le témoin sans sérum présente un trouble dû à la culture de la bactérie, les dilutions 1/32, 1/16, 1/8, 1/4 et 1/2 présentent une absence de culture (milieu transparent), les dilutions 1/64 et au-delà sont troubles. L'effet bactériostatique est donné par la plus grande dilution qui montre une absence de culture.

4.3. L'effet bactéricide est donné par la dilution présentant une culture équivalent à 0,01 % de survivants donc une dilution 10^{-4} de l'inoculum de départ. L'inoculum de départ contient 5.10^6 bactéries pour 1 mL donc 5.10^4 bactéries pour 10 µL donc 5 bactéries pour une dilution 10^{-4} de l'inoculum de départ. La strie de culture de la dilution 1/8 présentera environ 5 colonies, celle de la dilution 1/4 ne présentera pas de culture, et celle au 1/16 montrera sans doute une dizaine de colonies.

5. L'examen à l'état frais permet de mettre en évidence les parasites (protozoaires, œufs d'helminthe), les levures, les leucocytes, les hématies et les bactéries à morphologie ou mobilité particulières *(Campylobacter, Vibrio)*.

La coloration au bleu de méthylène permet une meilleure observation des leucocytes.

La coloration de Gram permet d'apprécier l'équilibre entre la flore à Gram positif et celle à Gram négatif et de repérer la présence d'une bactérie ou d'une levure dominante.

6. Ces deux types d'*E. coli* possèdent la capacité de se fixer sur les entérocytes (adhérence). Ensuite, leurs modes d'action diffèrent. *E. coli* entéro-invasif va pénétrer dans l'entérocyte, se multiplier et détruire la muqueuse intestinale, ce qui va entraîner une réaction inflammatoire et donc la présence de pus dans les selles.

E. coli entérotoxique va rester sur la muqueuse intestinale, s'y multiplier et sécréter une entérotoxine. L'entérotoxine pénètre dans l'entérocyte entraînant l'élimination d'eau dans les selles.

7. Études de formes parasitaires

Forme parasitaire	Produit biologique humain contenant la forme parasitaire	Taille approximative de la forme parasitaire	Élément(s) morphologique(s) caractéristique(s)
Œuf de *Schistosoma haematobium*	Urine	150 µm sur 60 µm	Coque mince avec une pointe aiguë à un pôle (éperon) Embryon cilié (miracidium)
Larve de *Trichinella spiralis*	Muscle	La larve mesure 1 mm sur 30 µm enroulée dans un kyste de 400 µm sur 250 µm	Larve enroulée en spirale
Embryophore de *Taenia saginata*	Selles	40 µm sur 30 µm	Coque épaisse striée Stries radiées Embryon hexacanthe (6 crochets)
Gamétocyte de *Plasmodium falciparum*	Sang	8 µm à 14 µm	De forme allongée en croissant (banane, faucille, etc.) bleu ou rose-mauve avec un pigment noir

8. Champignons dermatophytes

8.1. Ces dermatophytes font partie des genres *Trichophyton* et *Microsporum*.

8.2. La culture s'effectue sur un milieu Sabouraud au chloramphénicol (pour éliminer les bactéries) et à l'actidione (pour éliminer les champignons saprophytes). L'incubation se fait à 25 °C pendant 8 jours à 3 semaines.

8.3. Le n° 1 représente une macroconidie et le n° 2 une microconidie.

9. VIH

9.1. Le VIH possède une enveloppe riche en phospholipides. Cela le rend sensible aux agents tensio-actifs qui le désorganisent.

9.2. Le personnel doit se conformer aux recommandations des bonnes pratiques de laboratoire :

- respecter le protocole du lavage des mains, du nettoyage et de la désinfection, utiliser du matériel adapté (limitation du piquant-tranchant, système de prélèvement type Vacutainer® , etc.) ;
- utiliser à bon escient les moyens de protection individuelle (gants, lunettes, dispositif de pipetage, etc.) ;
- veiller à la bonne élimination des déchets (tri, conditionnement dans des récipients étanches inviolables et incinération).

En cas de contamination accidentelle de l'environnement, il faut utiliser une procédure de décontamination (absorption du liquide, lavage avec un agent tensio-actif puis action d'eau de Javel diluée) et éliminer correctement les déchets contaminés lors de cette décontamination.

En cas de contact cutané ou muqueux, après lavage et désinfection, faire une déclaration d'accident.

9.3. Les *Retroviridae* doivent leur nom à une enzyme qu'ils fabriquent, la transcriptase inverse, qui permet au génome viral (ARN) d'être transcrit en ADN dit proviral et ainsi d'être intégré au génome de la cellule hôte.

L'AZT est un inhibiteur de cette transcriptase inverse, c'est un analogue nucléosidique (proche de la thymidine naturelle) qui entre en compétition avec les nucléosides naturels lors de l'élongation de l'ADN proviral, ce qui conduit à l'arrêt de la synthèse d'ADN.

Biochimie

10. Enzymes à fonctions thiol

10.1. Réaction d'oxydoréduction correspondant à la formation d'un pont disulfure entre deux résidus de cystéine

$$R_1 - CH_2 - SH + R_2 - CH_2 - SH + X \longleftrightarrow R_1 - CH_2 - S - S - CH_2 - R_2 + XH_2$$

Principe :

– le liquide biologique à tester est mis en présence de l'antisérum (anticorps anti-hCG) : si ce liquide contient de l'hCG, il y a formation de complexes hCG – anti-hCG ;

– des hématies sensibilisées (recouvertes d'hCG) sont ajoutées : en cas de présence d'hCG dans le l'échantillon, les hématies sensibilisées sédimentent ; en l'absence d'hCG, elles sont agglutinées par l'antisérum.

Remarque : un tube témoin, contenant l'échantillon, le diluant et les hématies sensibilisées, permet de montrer l'absence d'agglutination non spécifique des hématies par le liquide biologique.

24. Dosage de l'hormone chorionique gonadotrope par une méthode immuno-enzymatique « sandwich » :

24.1. Principe de dosage.

Des anticorps anti-β-hCG, fixés sur un support solide, sont mis en présence du liquide à tester. Après incubation et lavages, des anticorps anti-β-hCG couplés à une enzyme (conjugué) sont ajoutés. On laisse incuber, on lave, on ajoute le substrat de l'enzyme puis, après blocage de la réaction, on mesure l'absorbance du produit formé. La quantité de produit formé est proportionnelle à la concentration de l'hormone dans l'échantillon testé.

Les anticorps utilisés dans cette technique sont des anticorps monoclonaux dirigés contre la chaîne β (la plus spécifique) de l'hormone (voir shéma p. 179).

24.2. Les lavages permettent d'éliminer l'interférence des éléments qui ne sont pas fixés spécifiquement.

25. Sérodiagnostic de la toxoplasmose :

25.1. Parmi les nombreuses techniques utilisables pour effectuer le sérodiagnostic de la toxoplasmose, les plus courantes sont :

– l'hémagglutination passive (HAI) ;
– l'agglutination directe (AD) ;
– l'immunofluorescence indirecte (IFI) ;
– l'immunocapture puis agglutination directe (ISAGA) ;
– l'immunocapture puis immuno-enzymologie (EIA).

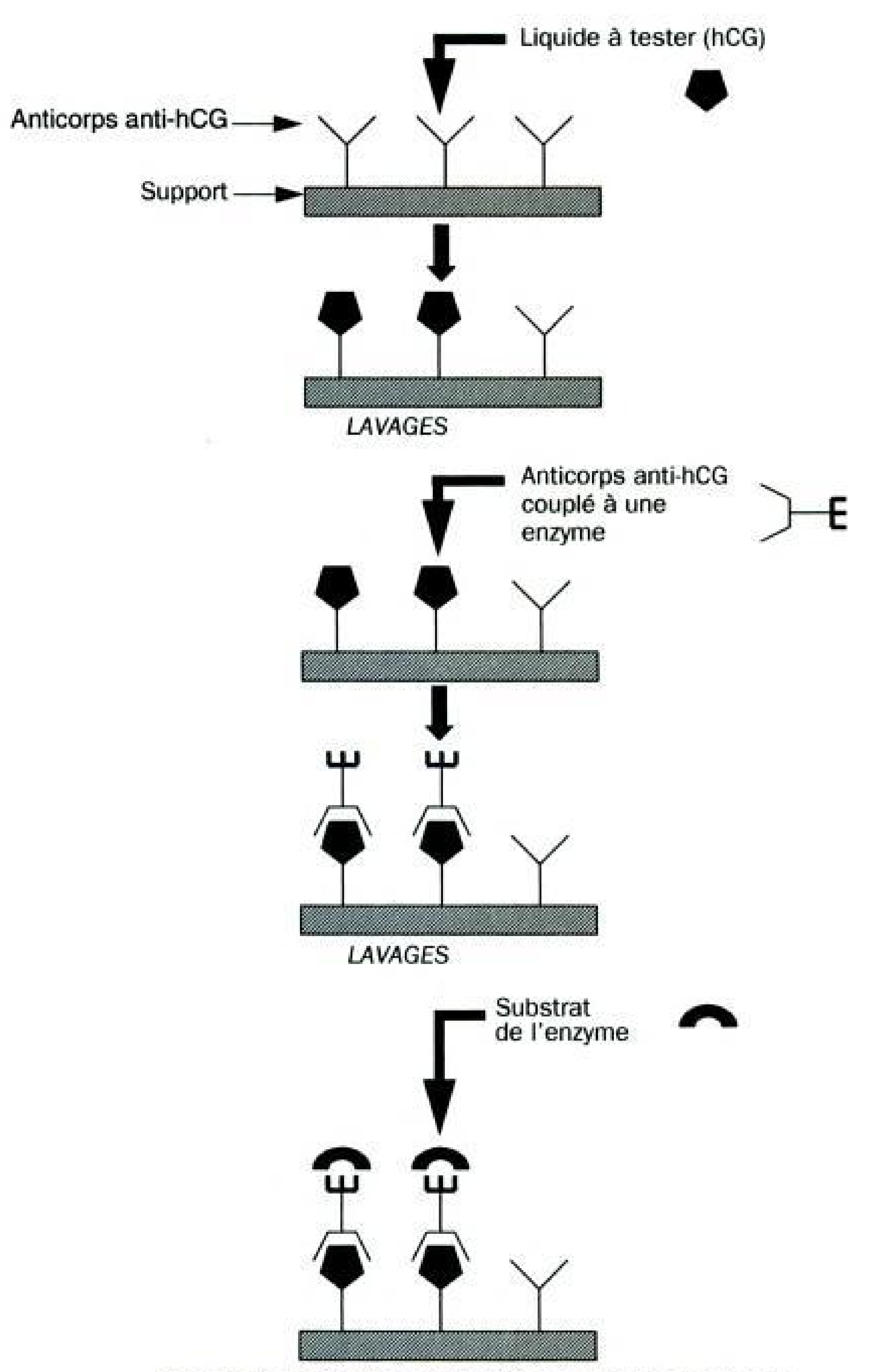
25.2. Méthodes utilisées pour titrer les IgM spécifiques :

– dans le cadre des techniques d'agglutination (HAI et AD), on réalise le titrage des anticorps avant et après traitement du sérum au 2-ME (mercapto-éthanol) qui dénature les IgM (la différence de titre permet d'évaluer les IgM) ;

– dans le cadre de l'immunofluorecence indirecte, le conjugué fluorescent utilisé est une anti-IgM (test de Remington) ;

– dans le cadre des techniques avec immunocapture (ISAGA et EIA), des anti-IgM étant fixées sur le support, seules les IgM seront retenues et titrées.

Le titrage des IgM permet de mettre en évidence une primo-infection chez la femme enceinte et une toxoplasmose congénitale chez le nouveau-né.


Liquide à tester (hCG)
Anticorps anti-hCG
Support
LAVAGES
Anticorps anti-hCG
couplé à une
enzyme
E
LAVAGES
Substrat
de l'enzyme
Blocage de la réaction et quantification du produit formé

26. La séquence des événements aboutissant au déclenchement d'une réaction d'hypersensibilité immédiate (Type I) est la suivante :

– Étape préparante : lors du premier contact avec l'allergène, l'organisme synthétise des IgE spécifiques qui vont se fixer sur les cellules basophiles (les granulocytes basophiles et surtout les mastocytes).
– Étape déclenchante : lors d'un second contact avec l'allergène, celui-ci, en se fixant sur les IgE des basophiles, va induire un signal d'activation cellulaire avec, pour conséquences, libération de médiateurs préformés, puis synthèse et libération de médiateurs néoformés.

Ces médiateurs ont divers effets (vasodilatation, contraction des muscles lisses, etc.) à l'origine des manifestations cliniques : asthme, œdème, urticaire, etc.

27. L'interféron β, synthétisé lors d'une infection virale (essentiellement par les fibroblastes et les cellules épithéliales), s'oppose à la réplication virale (blocage de la traduction des protéines virales) et stimule l'activité NK.



MATHÉMATIQUES

Mathématiques

* Dans cet ouvrage, les pages comportant les corrigés sont repérées par la présence d'une bande grisée en marge.

MATHÉMATIQUES 1995

(corrigé pp. 191-193)

Exercice 1

Partie 1

Lors de tests en vue de la réalisation d'antibiogrammes, on est amené à rechercher la relation existante entre les diamètres d'inhibition et les CMI correspondantes (CMI : concentration minimale inhibitrice).

Pour le ceftriaxone, l'étude expérimentale et théorique permet de montrer que, si l'on appelle y la CMI exprimée en µg/ml et si l'on appelle x le diamètre d'inhibition exprimé en mm, alors, sur l'intervalle [10 ; 15], y vérifie l'équation différentielle :

$$(E) \qquad y' + 0{,}32y = e^{5{,}9-0{,}32x}$$

1.1. Résoudre dans $\mathbb{R}^+$ l'équation différentielle :

$$y' + 0{,}32y = 0$$

1.2. Déterminer le réel a tel que la fonction y_0 définie dans $\mathbb{R}^+$ par :

$$y_0(x) = axe^{-0{,}32x}$$

soit une solution de l'équation différentielle *(E)*.

1.3. En déduire la solution générale sur $\mathbb{R}^+$ de l'équation *(E)*; puis sur $\mathbb{R}^+$ la solution de l'équation *(E)* vérifiant la condition : $y(11) = 74$.

Partie 2

On considère maintenant la fonction f définie sur $\mathbb{R}^+$ par :

$$f(x) = (0{,}96x - 3{,}72)e^{5{,}9-0{,}32x}$$

2.1. Étudier les variations de la fonction f sur $\mathbb{R}^+$. On rappelle que $\lim\limits_{x \to +\infty} xe^{-x} = 0$.

2.2. Étudier le signe de $f(x)$ sur $\mathbb{R}^+$.

Quelles conséquences peut-on déduire pour la représentation graphique de f sur $\mathbb{R}^+$?

2.3. Tracer la représentation graphique de la fonction f dans un repère $(O, \vec{i}, \vec{j})$.

(*Unités* : 1 cm pour 2 unités sur l'axe des abscisses, 1 cm pour 10 unités sur l'axe des ordonnées.)

Exercice 2

La taille des enfants de 10 ans dont le développement physique est régulier est une variable aléatoire qui suit la loi normale de moyenne 126 cm et d'écart type 4 cm, dans une population donnée.

1. On prend au hasard, dans cette population, un enfant de 10 ans dont le développement physique est régulier. Quelle est la probabilité pour que sa taille soit supérieure à 130 cm ?

2. On observe une population voisine. Le phénomène taille des enfants de 10 ans suit une loi analogue à la précédente, la seule valeur qui risque d'être différente est la taille moyenne. On prélève au hasard dans cette population voisine un échantillon de 50 enfants. La taille moyenne observée est de 127,4 cm.

   Tester au risque 5 % l'hypothèse que la taille moyenne est la même dans les deux populations contre l'alternative : elles sont différentes.

MATHÉMATIQUES 1996

(corrigé pp. 193-196)

Exercice 1

1. On note $y(t)$ la température en degrés Celsius d'une réaction chimique en fonction du temps t, t étant exprimé en heures. Après étude, on constate que la température est solution de l'équation différentielle :

$$(E) \qquad \frac{dy}{dt} + y = e^{-0,25t}$$

avec la condition initiale : $y(0) = 20$.

a) Résoudre pour $t \in [0, +\infty[$, l'équation : $\frac{dy}{dt} + y = 0$.

b) Déterminer le réel k tel que la fonction : $t \mapsto ke^{-0,25t}$ soit une solution particulière de *(E)*.

c) En déduire la solution générale de *(E)*.

d) Déterminer la solution de *(E)* satisfaisant la condition initiale.

2. On considère la fonction $f : t \mapsto \frac{1}{3}\left[56e^{-t} + 4e^{-0,25t}\right]$.

a) Étudier les variations de f sur $[0, +\infty[$.

b) Dans le plan rapporté à un repère orthogonal $(O, \vec{i}, \vec{j})$ unités graphiques 2 cm pour une heure sur l'axe des abscisses et 1 cm pour un degré sur l'axe des ordonnées), représenter graphiquement f.

Exercice 2

Partie A

Dans une ville A, le centre de transfusion sanguine effectue 2 000 prélèvements par jour. La probabilité pour qu'un prélèvement soit retenu est égale à 4/5.

On désigne par X la variable aléatoire prenant comme valeurs le nombre de prélèvements retenus chaque jour.

1. Déterminer les paramètres de la loi binomiale suivie par la variable aléatoire X.

2. Donner l'espérance mathématique de X, puis son écart type à 10^{-1} près par excès.

3. On admet que cette loi peut être approchée par une loi normale de moyenne 1 600 et d'écart type 17,9.

   Déterminer, avec cette approximation, la probabilité : $P(X > 1\,620)$.

Partie B

Dans une ville B, le centre de transfusion sanguine effectue également 2 000 prélèvements par jour. Pendant 30 jours, on a retenu 47 928 prélèvements. On suppose que tous les prélèvements sont indépendants.

1. Donner une estimation de la probabilité p de retenir un prélèvement.

2. En déduire une estimation du nombre moyen de prélèvements retenus par jour.

3. Déterminer un intervalle de confiance au risque de 5 % pour la probabilité p.

MATHÉMATIQUES 1997

(corrigé pp. 196-199)

Exercice 1

On fait absorber une substance S, dosée à 2 mg de principe actif, à un animal. Cette substance libère peu à peu le principe actif qui passe dans le sang. On

appelle $f(t)$ la quantité de principe actif, exprimée en mg, présente dans le sang à l'instant t ($t \geqslant 0$) donné en heures. Après étude, on constate que la fonction f est solution de l'équation différentielle :

$$(E) \qquad \frac{dy}{dt} + 0,5y = 0,5e^{-0,5t}$$

et qu'elle vérifie : $f(0) = 0$.

I. Résoudre l'équation différentielle : $\frac{dy}{dt} + 0,5y = 0$

II. Déterminer le nombre réel α tel que la fonction : $t \mapsto \alpha t e^{-0,5t}$

soit solution de l'équation différentielle *(E)*.

III. Déterminer la solution générale de *(E)*. En déduire la solution de *(E)* satisfaisant la condition initiale.

IV. On admet que la quantité totale $Q(x)$ de principe actif libérée par le produit *S* dans le sang au bout de x heures est donné (en mg) par :

$$Q(x) = \int_0^x f(t)d(t)$$

En admettant que la fonction F définie pour $t \geqslant 0$ par $F(t) = (-t - 2)e^{-0,5t}$ soit une primitive de f, calculer la quantité de principe actif libérée par le produit *S* au bout de 5 heures (donner la valeur exacte puis une valeur approchée à 10^{-1} près).

Exercice 2

On s'intéresse aux effets d'une maladie *M* sur le taux *X* de certaines protéines dans le sang.

I. Une étude antérieure a permis de montrer que ce taux *X*, mesuré dans une unité convenable, suit une loi normale de moyenne 130 et d'écart type $\sigma = 5,2$.

Calculer le pourcentage d'individus de la population dont le taux *X* est compris entre 125 et 140.

II. Afin de mesurer les effets de la maladie *M* sur le taux *X* de protéines, on effectue dans un premier temps un calcul de probabilité. Dans une population de grand effectif, on a constaté que 5 % des individus sont atteints de la maladie *M*, 20 % ont un taux de protéines considéré comme anormal et 3 % sont atteints de la maladie *M* et ont un taux de protéines anormal.

Pour un individu choisi au hasard, on appelle *A* l'événement « être atteint de la maladie *M* » et *B* l'événement « avoir un taux de protéines anormal ».

1) Préciser les probabilités suivantes : $P(A)$, $P(B)$, $P(A \cap B)$. En déduire $P(A \cup B)$.

2) Les événements A et B sont-ils indépendants ?

3) Quelle est la probabilité pour un individu d'avoir un taux de protéines anormal sachant qu'il est atteint de la maladie M ?

4) Quelle est la probabilité pour un individu d'être atteint de la maladie M sachant qu'il a un taux anormal de protéines ?

III. Dans un deuxième temps, on effectue un test statistique de comparaison de moyennes de deux échantillons. Pour cela, on prélève au hasard dans la population un échantillon E_1 de 36 individus atteints de la maladie M et un échantillon E_2 de 36 individus sains. Pour chacun de ces individus, on mesure le taux de protéines. La moyenne obtenue pour l'échantillon E_1 est de 128 et la moyenne obtenue pour l'échantillon E_2 est de 131. On admet que l'écart type du taux de protéines dans chacune de populations parentes de E_1 et E_2 est égal à 5,2.

Au seuil de risque 5 %, peut-on considérer que la maladie M modifie le taux X de ces protéines ?

MATHÉMATIQUES 1998

(corrigé pp. 199-201)

Exercice 1

Pour étudier l'érythroblastose, on injecte du fer radioactif par voie veineuse. On constate que sa concentration plasmatique décroît au cours du temps et que cette décroissance est caractérisée par une période T (temps en minutes au bout duquel la concentration a diminué de moitié).

Cet examen effectué sur un échantillon de 400 sujets sains a donné les résultats suivants :

Période	[60, 65[	[65, 70[	[70, 75[	[75, 80[	[80, 85[	[85, 90[	[90, 95[
Nombre de sujets	5	11	18	29	40	51	57

[95, 100[	[100, 105[	[105, 110[	[110, 115[	[115, 120[	[120, 125[	[125, 130[
54	48	35	25	15	8	4

1) Calculer une valeur approchée de la moyenne m_e et l'écart type σ_e de cette série, arrondis au dixième le plus proche.

2) On admet que T, la variable aléatoire exprimant la période, suit la loi normale de paramètres m et σ; donner des estimations ponctuelles pour m et σ.

3) Donner un intervalle de confiance pour m, au seuil de risque 5 %.

Exercice 2

Une étude sur le comportement d'organismes vivants placés dans une enceinte close, dont le milieu nutritif est renouvelé en permanence, a conduit à stipuler que l'évolution de la population suit l'équation différentielle suivante E_1 :

$$(E_1) \qquad N'(t) = 2N(t) - 0{,}0045\,[N(t)]^2 \qquad (t \geqslant 0)$$

où le temps t est exprimé en heures et $N(t)$ représente le nombre d'individus présents dans l'enceinte à l'instant t.

Le nombre initial d'individus (à l'instant $t = 0$) est $N_0 = 10^3$.

1) On pose $Y(t) = \dfrac{1}{N(t)}$

a) Calculer la dérivée de la fonction Y.

b) Montrer que Y vérifie l'équation différentielle E_2 :

$$(E_2) \qquad Y'(t) = -\,2Y(t) + 0{,}0045 \qquad (t \geqslant 0)$$

c) Résoudre cette équation différentielle (E_2).

(on cherchera une solution particulière constante).

d) Montrer alors que, compte tenu de la condition initiale, on a :

$$N(t) = \frac{2}{0{,}0045 - 0{,}0025e^{-2t}}$$

2) Soit la fonction f définie pour $t \in [0, +\infty[$ par : $f(t) = \dfrac{2}{-0{,}0025e^{-2t} + 0{,}0045}$

a) Étudier les variations de f sur $[0, +\infty[$.

b) Dans le plan rapporté à un repère orthogonal $(O, \vec{i}, \vec{j})$ (unités graphiques : 5 cm pour une heure sur l'axe des abscisses et 1 cm pour 100 individus sur l'axe des ordonnées), représenter graphiquement f.

c) En admettant que $N(t) = f(t)$, au bout de combien de temps la population initiale aura-elle diminué de moitié ?

MATHÉMATIQUES 1999

(corrigé pp. 202-205)

Exercice 1

Les statistiques ont permis d'établir qu'en période de compétition la probabilité, pour un sportif pris au hasard, d'être déclaré positif au contrôle antidopage est égale à 0,02.

1. La prise d'un médicament *M* peut entraîner, chez certains sportifs, un contrôle antidopage positif. En période de compétition, ce médicament, qui diminue fortement les effets de la fatigue musculaire, est utilisé par 25 % des sportifs. La probabilité, pour un tel sportif, d'être déclaré positif au contrôle antidopage est alors égale à 0,05.

Pour un sportif choisi au hasard en période de compétition, on appelle *A* l'événement : « utiliser le médicament *M* » et *B* l'événement : « être déclaré positif au contrôle antidopage ».

a) Préciser les probabilités suivantes : $P(A)$, $P(B)$ et $P(B/A)$. Calculer alors $P(A \cap B)$.

b) Pour un sportif choisi au hasard en période de compétition calculer la probabilité de chacun des événements suivants :

E_1 : « utiliser le médicament *M* sachant qu'il est déclaré positif au contrôle antidopage » ;

E_2 : « être déclaré positif au contrôle antidopage sachant qu'il n'utilise pas le médicament *M* ».

2. Au cours d'une compétition, on fait subir des contrôles antidopages à un échantillon ε de 50 sportifs choisis au hasard. On désigne par *X* la variable aléatoire qui mesure le nombre d'individus dont les contrôles sont déclarés positifs. On admet que *X* suit la loi binomiale $\beta(50 ; 0,02)$.

(Pour les questions a) et b), les résultats seront arrondis à 10^{-3}.)

a) Calculer la probabilité qu'aucun contrôle ne soit déclaré positif.

Déterminer l'espérance et la variance de la variable aléatoire *X*.

b) On admet que la loi de *X* peut être approchée par une loi de Poisson dont on précisera le paramètre. Calculer alors la probabilité $P(X \geqslant 1)$.

Exercice 2

Après la prise d'un médicament *M*, le principe actif traverse la muqueuse intestinale puis passe dans le sang où il est dégradé puis évacué. On suppose que ce processus démarre à l'instant $t = 0$.

1) On pose $z_i = \ln(N_i - 2)$ pour tout i variant de 0 à 6 (où ln désigne le logarithme népérien).

Donner les valeurs de z_i arrondies au millième le plus proche.

Représenter le nuage $(t_i\,;\,z_i)$ dans un repère orthogonal (unités graphiques : 3 cm pour une heure en abscisse, 4 cm pour une unité en ordonnée).

2) Donner le coefficient de corrélation linéaire de la série $(t_i\,;\,z_i)$ et donner une équation de la droite de régression de z en t (les coefficients seront arrondis au millième le plus proche).

3) Donner l'expression de N en fonction de t déduite de cet ajustement.

4) En supposant que l'expression obtenue en 3) reste valable, déterminer à partir de quel relevé on obtiendra une valeur de N inférieure ou égale à 3.

Partie B

Une étude plus approfondie amène à faire l'hypothèse que la fonction, qui au temps t (en heure) associe le nombre $N(t)$, est une solution de l'équation différentielle :

$y' = \alpha(y - 2)$ où α est une constante réelle.

1) Déterminer la solution générale de l'équation différentielle ci-dessus.

2) En déduire la solution qui prend la valeur 170 pour $t = 0$ et la valeur 9 pour $t = 6$.

Partie C

Soit f la fonction définie sur $[0\,;+\infty[$ par $f(x) = 168e^{-0,53x} + 2$ et (C) sa courbe représentative dans un repère orthogonal (unités graphiques : 2 cm sur l'axe des abscisses, 1 mm sur l'axe des ordonnées).

1) Calculer $\lim\limits_{x \to +\infty} f(x)$; interpréter géométriquement le résultat obtenu.

2) Chercher les variations de la fonction f sur $[0\,;+\infty[$.

3) Construire le courbe (C).

4) Résoudre l'équation $f(x) \leqslant 30$ dans l'intervalle $[0\,;+\infty[$; vérifier graphiquement.

5) Calculer la valeur moyenne de la fonction f sur l'intervalle $[1\,;6]$; on donnera la valeur exacte et une valeur décimale approchée à 10^{-2} près.

MATHÉMATIQUES 1995

Exercice 1

Partie 1

Sur l'intervalle [10; 15], on étudie l'équation différentielle *(E)* $y' + 0,32y = e^{5,9-0,32x}$.

1. Résolvons dans $\mathbb{R}^+$ l'équation différentielle $y' + 0,32y = 0$.

Une équation différentielle de la forme $y' + ay = 0$ a pour solution générale $y(x) = Ce^{-ax}$ où *C* est une constante réelle quelconque.
Ici, a = 0,32. Donc la solution générale de l'équation différentielle proposée est $y(x) = Ce^{-0,32x}$ où *C* est une constante réelle quelconque.

2. Déterminons le réel *a* tel que la fonction y_0 définie dans $\mathbb{R}^+$ $y_0(x) = axe^{-ax}$ par soit une solution de l'équation différentielle *(E)*.

Si y_0 est solution de *(E)* donc $y_0' + 0,32y_0 = e^{5,9-0,32x}$

$y_0'(x) = ae^{-0,32x} - 0,32axe^{-0,32x} = (a - 0,32ax)e^{-0,32x}$

$$(a - 0,32ax)e^{-0,32x} + 0,32axe^{-0,32x} = e^{5,9-0,32x}$$

D'où : $a - 0,32ax + 0,32ax = e^{5,9} \Leftrightarrow a = e^{5,9}$

Donc, $y_0(x) = xe^{5,9-0,32x}$ est solution de l'équation *(E)*.

3. La solution générale d'une équation différentielle avec second membre est la somme de la solution générale de l'équation sans second membre et d'une solution particulière de l'équation avec second membre.

Donc, la solution générale de l'équation *(E)* sur $\mathbb{R}^+$ est :

$y(x) = Ce^{-0,32x} + xe^{5,9-0,32x}$

$y(11) = 74 \Leftrightarrow 74 = Ce^{-3,52} + 11e^{2,38} \Leftrightarrow C = -1\,515$

Donc, la solution de *(E)* vérifiant $y(11) = 74$ est $y(x) = -1\,515^{-0,32x} + xe^{5,9-0,32x}$.

Partie 2

On considère la fonction *f* définie sur $\mathbb{R}^+$ par $f(x) = (0,96x - 3,72)e^{5,9-0,32x}$.

1. Variations de la fonction f sur $\mathbb{R}^+$:

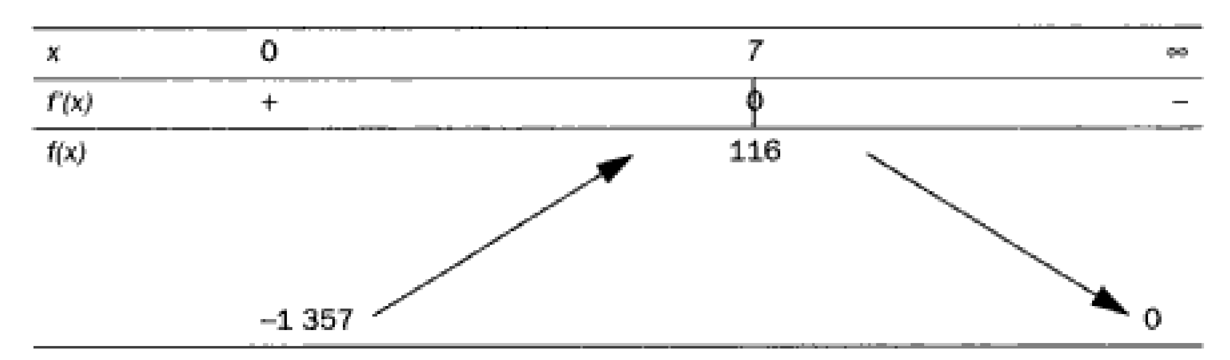
$f'(x) = 0,96e^{5,9-0,32x} + (0,96x - 3,72)(-0,32)e^{5,9-0,32x}$

$f'(x) = (-0,3072x + 2,1504)e^{5,9-0,32x}$

Une exponentielle étant toujours positive, f' est du signe de $-0{,}3072x + 2{,}1504$. C'est-à-dire que f' est positive lorsque $-0{,}3072x + 2{,}1504 \geqslant 0 \Leftrightarrow x \leqslant 7$.

$$\lim_{x\to\infty} e^{-0{,}32x} = \lim_{x\to\infty} xe^{-0{,}32x} = 0 \Rightarrow \lim_{x\to\infty} f(x) = 0$$

D'où le tableau de variation suivant :

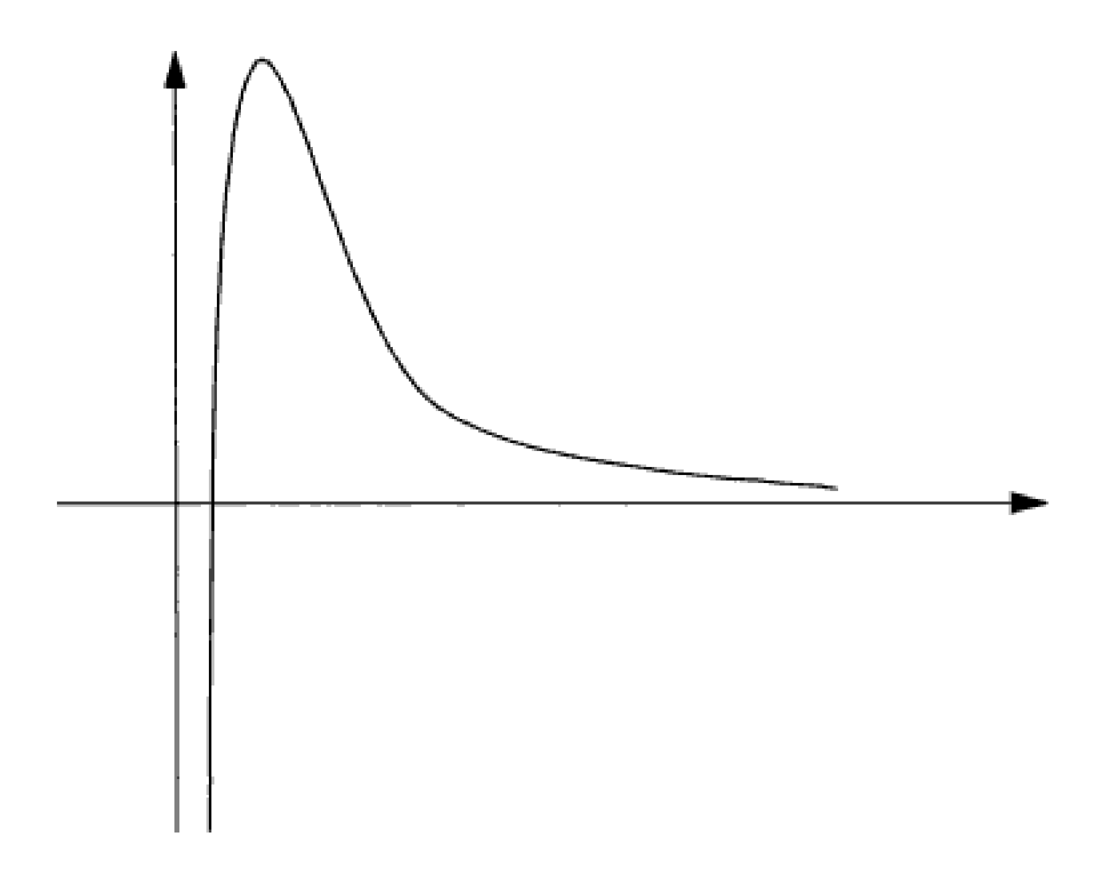


x	0	7	∞
$f'(x)$	+	0	–
$f(x)$	–1 357 ↗	116	↘ 0

2. Une exponentielle est toujours positive donc f est du signe de $0{,}96x - 3{,}72$. C'est-à-dire que $f(x) \geqslant 0 \Leftrightarrow x \geqslant \dfrac{3{,}72}{0{,}96} \Leftrightarrow x \geqslant 3{,}875$.

Pour la représentation de graphique de f, ceci signifie que la courbe est au-dessus de l'axe Ox si $x > 3{,}875$, qu'elle coupe Ox en $x = 3{,}875$ et qu'elle est au dessous de Ox pour $0 \leqslant x \leqslant 3{,}875$.

3. Allure de la courbe de la fonction f.



Exercice 2

Soit X la taille d'un enfant de 10 ans. X suit la loi normale de moyenne 126 cm et d'écart type 4 cm.

1. Probabilité pour qu'un enfant pris au hasard ait une taille supérieure à 130 cm.

Soit $T = \frac{X - m}{\sigma} = \frac{X - 126}{4}$.

La variable aléatoire T suit la loi normale centrée réduite.

Nous cherchons à déterminer $P(X > 130)$.

$$P(X > 130) = P\left(\frac{X - 126}{4} > \frac{130 - 126}{4}\right) = P(T > 1) = 1 - P(T \leq 1)$$

Or, $P(T \leq 1) = \Pi(1) = 0{,}8413$ d'après la table de la fonction intégrale de la loi normale centrée réduite.

D'où : $P(X > 130) = 1 - 0{,}8413 = 0{,}1586$.

2. On veut comparer la taille observée (127,4 cm) sur un échantillon de 50 enfants à la valeur de référence 126 cm. La variable aléatoire m (moyenne de l'échantillon) a une espérance de 126 et un écart type de $\frac{4}{\sqrt{50}}$.

Posons deux hypothèses :
- hypothèse nulle : les tailles sont les mêmes;
- hypothèse alternative : les tailles sont différentes.

$$\frac{|127{,}4 - 126|}{\frac{4}{\sqrt{50}}} = 2{,}47 > 1{,}96$$

Donc, on rejette l'hypothèse nulle au risque 5 %. La taille moyenne des deux populations n'est pas la même.

MATHÉMATIQUES 1996

Exercice 1

1. On étudie l'équation différentielle (E) $\frac{dy}{dt} + y = e^{-0{,}25t}$ avec la condition initiale $y(0) = 20$.

a) Résolvons sur $[0,+\infty[$ l'équation $\frac{dy}{dt}+y=0$.

Une équation différentielle de la forme $\frac{dy}{dt}+ay=0$ a pour solution générale $y(t)=Ce^{-at}$ où C est une constante réelle quelconque.

Ici, a = 1. Donc, la solution générale de $\frac{dy}{dt}+y=0$ sur $\mathbb{R}^+$ est $y(t)=Ce^{-t}$ où C est une constante réelle quelconque.

b) Déterminons le réel k tel que la fonction $y_0:t\rightarrow ke^{-0,25t}$ soit une solution particulière de *(E)*.

Si y_0 est une solution particulière de *(E)* alors $\frac{dy_0}{dt}+y_0=e^{-0,25t}$.

$$\frac{dy_0}{dt}=-0,25ke^{-0,25t}$$

Donc, $-0,25ke^{-0,25t}+ke^{-0,25t}=e^{-0,25t}\Leftrightarrow 0,75k=1\Leftrightarrow k=\frac{4}{3}\approx 1,33$.

D'où : $y_0(t)=\frac{4}{3}e^{-0,25t}$ est une solution particulière de l'équation *(E)*.

c) Pour obtenir la solution générale de *(E)*, il faut ajouter à la solution générale de l'équation sans second membre une solution particulière de *(E)*.

Donc, la solution générale de *(E)* est $y(t)=Ce^{-t}+\frac{4}{3}e^{-0,25t}$ avec C une constante réelle quelconque.

d) Déterminons la solution de *(E)* vérifiant la condition initiale $y(0)$ = 20.

$$y(0)=20\Leftrightarrow C+\frac{4}{3}=20\Leftrightarrow C=\frac{56}{3}$$

La solution de *(E)* vérifiant la condition initiale $y(0)$ = 20 est :

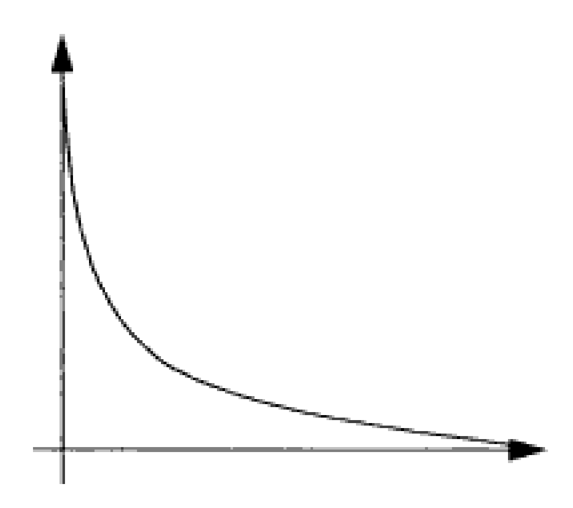
$y(t)=\frac{56}{3}e^{-t}+\frac{4}{3}e^{-0,25t}$.

2. On considère la fonction $f:t\rightarrow\frac{1}{3}(56e^{-t}+4e^{-0,25t})$

a) Étudions les variations de f sur $\mathbb{R}^+$:

$f'(t)=\frac{1}{3}(-56e^{-t}-e^{-0,25t})<0$ sur $\mathbb{R}^+$. La fonction f est donc strictement décroissante sur $\mathbb{R}^+$.

b) Allure de la courbe de *f*.



Exercice 2

Partie A

Soit X la variable aléatoire prenant comme valeurs le nombre de prélèvements retenus chaque jour.

1. Déterminons les paramètres de la loi binomiale suivie par X.

Parmi 2 000 prélèvements effectués par jour, la probabilité pour que l'un d'eux soit retenu est de $\frac{4}{5}$.

Donc, les paramètres de la loi binomiale suivie par X sont $n = 2\,000$ et $p = \frac{4}{5}$.

X suit la loi $B\left(n = 2\,000, p = \frac{4}{5}\right)$.

2. Déterminons l'espérance et l'écart type de X.

$$E(X) = np = 2\,000 \times 0,8 = 1\,600$$
$$\sigma = \sqrt{np(1-p)} = \sqrt{1\,600 \times 0,2} \approx 17,9$$

X a pour espérance 1 600 et pour écart type 17,9.

3. On admet que cette loi peut être approchée par une loi normale de moyenne 1 600 et d'écart type 17,9.

Avec cette approximation, déterminons la probabilité $P(X > 1\,620)$.

La variable aléatoire $T = \frac{X - 1\,600}{17,9}$ suit la loi normale centrée réduite.

$$P(X > 1\,620) = P\left(\frac{X - 1\,600}{17,9} > \frac{1\,620 - 1\,600}{17,9}\right) = P(T > 1,12) = 1 - P(T \leqslant 1,12)$$

Or, $P(T \leqslant 1,12) = \Pi(1,12) = 0,8686$.

Donc, $P(X > 1\,620) = 1 - 0,8686 = 0,1314$.

Partie B

En 30 jours, on a retenu 47 928 prélèvements.

1. Donnons une estimation de la probabilité p de retenir un prélèvement.

En 30 jours, on a effectué 60 000 prélèvements et on en a retenu 47 928.

Donc une estimation de p est $p = \dfrac{47\,928}{60\,000} = 0,7988$.

2. Nombre moyen m de prélèvements retenus chaque jour.

$$m = n.p = 2\,000 \times 0,7988 = 1\,598$$

3. Intervalle de confiance pour la probabilité p au risque 5 %.

Au risque 5 %, l'intervalle recherché est :

$$\left[p - 1,96\sqrt{\frac{p(1-p)}{n-1}}\,;\, p + 1,96\sqrt{\frac{p(1-p)}{n-1}}\right]$$

(avec $p = 0,7988$ et $n = 2\,000$)

Donc, l'intervalle de confiance au risque 5 % est [0,781; 0,816].

MATHÉMATIQUES 1997

Exercice 1

Soit *(E)* l'équation différentielle $\dfrac{dy}{dt} + 0,5y = 0,5e^{-0,5t}$.

Soit f une fonction solution de *(E)* et vérifiant $f(0) = 0$.

I. Solution générale de $\dfrac{dy}{dt} + 0,5y = 0$.

La solution générale de l'équation différentielle $\dfrac{dy}{dt} + ay = 0$ est $y(t) = Ce^{-at}$ avec C une constante réelle quelconque.

Ici, $a = 0,5$. Donc, $y(t)=Ce^{-0,5t}$ avec C une constante réelle quelconque.

II. Déterminons le nombre réel α tel que la fonction $y_0 : t \to \alpha t e^{-0,5t}$ soit solution de l'équation différentielle *(E)*.

Si y_0 est solution de *(E)* alors $\frac{dy_0}{dt} + 0,5y_0 = 0,5e^{-0,5t}$

$$\frac{dy_0}{dt} = \alpha e^{-0,5t} - 0,5\alpha t e^{-0,5t}$$

Donc, $\alpha e^{-0,5t} - 0,5\alpha t e^{-0,5t} + 0,5\alpha t e^{-0,5t} = 0,5e^{-0,5t} \Leftrightarrow \alpha = 0,5$.

$y_0 : t \to 0,5te^{-0,5t}$ est une solutio n particulière de l'équation différentielle *(E)*.

III. Déterminons la solution générale de l'équation *(E)*.

Pour obtenir la solution générale de *(E)*, il faut ajouter la solution générale de l'équation sans second membre (question I) et une solution particulière de l'équation *(E)*.

Donc, la solution générale de *(E)* est $y(t) = Ce^{-0,5t} + 0,5te^{-0,5t} = (C + 0,5t)e^{-0,5t}$

Déterminons la solution satisfaisant la condition initiale $y(0) = 0$.

$$y(0) = C = 0$$

Donc, $f(t) = 0,5te^{-0,5t}$.

IV. Soit $Q(x) = \int_0^x f(t)d(t)$

Q(x) est la quantité de principe actif libérée dans le sang au bout de *x* heures.

On cherche à déterminer la quantité de principe actif libérée dans le sang au bout de 5 heures. Il faut donc calculer $Q(5)$.

Pour $t \geqslant 0$,une primitive de f est $F(t) = (-t-2)e^{-0,5t}$.

$$Q(5) = \int_0^x f(t)dt = F(5) - F(0) = -7e^{-2,5} + 2 \approx 1,4 \text{ mg}$$

La quantité de principe actif libérée par le produit *S* au bout de 5 heures est 1,4 mg.

Exercice 2

On s'intéresse aux effets d'une maladie *M* sur le taux *X* de certaines protéines dans le sang.

I. *X* suit une loi normale de moyenne 130 et d'écart type 5,2.

La variable aléatoire $T = \frac{X - 130}{5,2}$ suit la loi normale centrée réduite.

Nous cherchons à déterminer $P(125 \leqslant X \leqslant 140) = P(X \leqslant 140) - P(X \leqslant 125)$.

$$P(125 \leqslant X \leqslant 140) = P\left(\frac{X-130}{5,2} \leqslant \frac{140-130}{5,2}\right) - P\left(\frac{X-130}{5,2} \leqslant \frac{125-130}{5,2}\right)$$
$$= P(T \leqslant 1,923) - P(T \leqslant -0,961)$$
$$= P(T \leqslant 1,923) - [1 - P(T \leqslant 0,961)]$$
$$= \Pi(1,923) + \Pi(0,961) - 1 = 0,9726 + 0,8315 - 1 = 0,804$$

Donc, il y a 80,4 % de la population dont le taux X est compris entre 125 et 140.

II. Soit A l'événement « être atteint de la maladie M ».
Soit B l'événement « avoir un taux de protéines considéré comme anormal ».

1) D'après l'énoncé, $P(A) = \frac{5}{100} = 0,05$ et $P(B) = \frac{20}{100} = 0,2$.

L'événement $A \cap B$ correspond à « être atteint de la maladie M et avoir un taux de protéines anormal ». Donc, d'après l'énoncé, $P(A \cap B) = \frac{3}{100} = 0,03$.

$$P(A \cup B) = P(A) + P(B) - P(A \cup B) = 0,05 + 0,2 - 0,03 = 0,22$$

2) Si A et B sont deux événements indépendants, alors $P(A \cap B) = P(A)P(B)$.

$$P(A \cap B) = \frac{3}{100} = 0,03$$

$$P(A)P(B) = 0,2 \times 0,05 = 0,01 \neq 0,03$$

Donc, les deux événements A et B ne sont pas indépendants.

3) On cherche à déterminer $P(B / A) = \frac{P(A \cap B)}{P(A)}$.

D'après les résultats précédents, $P(B / A) = \frac{0,03}{0,05} = 0,6$.

4) On cherche à déterminer $P(A / B) = \frac{P(A \cap B)}{P(B)}$.

D'après les résultats précédents, $P(A / B) = \frac{0,03}{0,2} = 0,15$.

III. Soit H l'hypothèse selon laquelle la maladie M ne modifie pas le taux X de ces protéines.

$$t = \frac{|131 - 128|}{\sqrt{\frac{5,2^2}{35} + \frac{5,2^2}{35}}} = 2,41 > 1,96$$

Donc, au risque 5 %, on peut considérer que la maladie *M* modifie le taux *X* de ces protéines.

MATHÉMATIQUES 1998

Exercice 1

1. Les périodes sont réparties selon des intervalles (ou classes). Pour obtenir la moyenne arithmétique, il faut considérer les centres de ces intervalles.

La moyenne arithmétique est obtenue par la formule suivante :

$$m_e = \frac{n_1c_1 + ... + n_{14}c_{14}}{n}$$

avec $c_1 = \frac{60+65}{2}$ et $n_1 = 5$ .... $c_{14} = \frac{125+130}{2}$ et $n_{14} = 3$.

La moyenne m_e a pour valeur 94,1.

L'écart type de l'échantillon est la racine carrée de la variance. La variance se calcule selon la formule suivante :

$$V = \frac{n_1(c_1 - m_e)^2 + ... + n_{14}(c_{14} - m_e)^2}{n}.$$

On obtient $\sigma_e = \sqrt{V} = 13{,}7$.

Une valeur approchée de la moyenne est 94,1 jours et une valeur approchée de l'écart type est 13,7 jours.

2. Une estimation de la moyenne *m* est la moyenne m_e calculée à la question précédente.

L'écart type σ de cette population est $\sigma = \sqrt{\frac{n}{n-1}} \cdot \sigma_e$ où *n* représente l'effectif (ici, $n = 400$) et σ_e l'écart type de l'échantillon.

D'où : $\sigma = \sqrt{\frac{400}{399}} \times 13{,}7 = 13{,}7$.

3. Intervalle de confiance de la moyenne *m* au risque 5 %.

L'intervalle au risque 5 % est $\left[m - 1{,}96\frac{\sigma}{\sqrt{n}} ; m + 1{,}96\frac{\sigma}{\sqrt{n}}\right]$ avec $n = 400$.

Donc, l'intervalle de confiance pour *m* au risque 5 % est [92,8 ; 95,4].

MATHÉMATIQUES 1999

Exercice 1

1. Événement A : « utiliser le médicament M ».
Événement B : « être déclaré positif au contrôle antidopage ».

a) D'après l'énoncé :

$P(A) = 0{,}25$

$P(B) = 0{,}02$

$P(C) = 0{,}05$

Or, $P(B/A) = \dfrac{P(A \cap B)}{P(A)}$

d'où $P(A \cap B) = P(B/A) . P(A) = 0{,}05 . 0{,}25 = 0{,}125$

$P(A) = 0{,}25$; $P(B) = 0{,}02$; $P(B/A) = 0{,}05$; $P(A \cap B) = 0{,}0125$.

b) E_1 : « utiliser le médicament M sachant qu'il est déclaré positif au contrôle antidopage ».

E_2 : « être déclaré positif au contrôle antidopage sachant qu'il n'utilise pas le médicament M ».

En utilisant les notations de la question précédente, on peut écrire :

$E_1 = A/B$ et $E_2 = B/\overline{A}$

$P(E_1) = P(A/B) = \dfrac{P(A \cap B)}{P(B)} = \dfrac{0{,}0125}{0{,}02} = 0{,}625$

$P(E_2) = P(B/\overline{A}) = \dfrac{P(B \cap \overline{A})}{P(\overline{A})}$

$P(B \cap \overline{A}) = P(\overline{A}/B) . P(B) = \left[1 - P(A/B)\right] . P(B)$

$P(B \cap \overline{A}) = \left[(1 - P(E_1))\right] . P(B) = 0{,}375 \times 0{,}02 = 0{,}0075$

$P(\overline{A}) = 1 - P(A) = 1 - 0{,}25 = 0{,}75$

Donc : $P(E_2) = \dfrac{P(B \cap \overline{A})}{P(\overline{A})} = \dfrac{0{,}0075}{0{,}75} = 0{,}01$

$P(E_1) = 0{,}625$ et $P(E_2) = 0{,}01$.

2. Contrôle antidopage d'un échantillon ε de 50 sportifs.

X : variable aléatoire qui mesure le nombre d'individus contrôlés positifs.

On admet que X suit la loi binomiale $\beta(50 ; 0{,}02)$.

Rappel : si X suit une loi binomiale $\beta\ (n ; p)$ alors $P(X = k) = C_n^k\, p^k(1 - p)^{n-k}$

Dans cet exercice $n = 50$ et $p = 0{,}02$.

a) Calcul de $P(X = 0)$:

$$P(X = 0) = C_{50}^0 p^0(1 - 0{,}02)^{50-0} = 1 \times 1 \times 0{,}9850 = 0{,}9850 = 0{,}364$$

Calcul de l'espérance $E(X)$:

$$E(X) = np = 50 \times 0{,}02 = 1$$

Calcul de la variance $V(X)$:

$$V(X) = np(1 - \mathrm{p}) = 50 \times 0{,}02 \times (1 - 0{,}02) = 1 \times 0{,}98 = 0{,}98$$

$P(X) = 0{,}364$; $E(X) = 1$ et $V(X) = 0{,}98$.

b) On admet que la loi de X peut être approchée par une loi de Poisson.

Rappel : si X suit une loi de Poisson de paramètre λ alors :

$$P(X = k) = e^{-\lambda}\,\frac{\lambda^k}{k!}$$

Déterminons le paramètre λ :

$$P(X = 0) = e^{-\lambda}\,\frac{\lambda^0}{0!} = e^{-\lambda}$$

et $P(X = 0) = 0{,}364$ d'après la question précédente.

D'où $e^{-\lambda} = 0{,}364$.

$\ln(e^{-\lambda}) = -\lambda = \ln 0{,}364$.

$\lambda = -\ln 0{,}364 = 1{,}01$.

Calculons $P(X \geqslant 1)$:

$$P(X \geqslant 1) = 1 - P(X < 1) = 1 - P(X = 0) = 1 - 0{,}364 = 0{,}636.$$

Exercice 2

$Q(t)$: quantité de principe actif présente dans le sang au temps t.

Q exprimée en mg et t exprimé en minutes ($0 \leqslant t \leqslant 660$).

$Q(0) = 0$.

Q vérifie l'équation : $6\dfrac{dQ}{dt} + Q = -0{,}003t + 1{,}982 \quad (E)$

1. Résolution de l'équation différentielle.

$$6\frac{dQ}{dt} + Q = 0 \qquad (E_1)$$

$$\frac{dQ}{dt} = -\frac{1}{6}Q$$

$$\frac{dQ}{Q} = -\frac{1}{6}dt$$

$$\ln Q = -\frac{1}{6}t + C$$

$$Q(t) = Ce^{-\frac{1}{6}t},\ C \in \mathbb{R}.$$

2. Déterminons les réels a et b tels que $ft \to at + b$ soit la solution de *(E)*.

f solution de $E \Leftrightarrow 6\,f'(t) + f(t) = -\,0{,}003t + 1{,}982$.

$f'(t) = a$.

D'où $6a + (at + b) = -\,0{,}003t + 1{,}982 \Leftrightarrow at + 6a + b = -\,0{,}003t + 1{,}982$

Par identification des coefficients, on obtient le système suivant :

$a = -\,0{,}003$ et $6a + b = 1{,}982$

d'où $b = 1{,}982 - 6(-\,0{,}003) = 2$

$a = -\,0{,}003$ et $b = 2$.

3. a) Vérifions que $Q : t \to 2 - 0{,}003t - 2\,e^{-t/6}$ (avec $t \in [0; 660]$) est solution de l'équation *(E)*.

Remarque : on notera que l'on vérifie que Q est la somme d'une solution particulière de *(E)* ($t \to 2 - 0{,}003t$) et de la solution générale de l'équation sans second membre ($t \to Ce^{-t/6}$ avec $C = -\,2$).

Q solution de $(E) \Leftrightarrow 6Q'(t) + Q(t) = -\,0{,}003t + 1{,}982$

$6Q'(t) = 6[-\,0{,}003 - 2(-\,1/6)e^{-t/6}] = -\,0{,}018 + 2e^{-t/6}$

$6Q'(t) + Q(t) = -\,0{,}018 + 2e^{-t/6} + 2 - 0{,}003t - 2e^{-t/6} = 1{,}982 - 0{,}003t$

$6Q'(t) + Q(t) = 1{,}982 - 0{,}003t$ donc Q est solution de l'équation *(E)*.

$0 \leqslant t \leqslant 660,\ Q(t) = 2 - 0{,}003t - 2e^{-t/6}$

On remarque que Q vérifie bien l'hypothèse $Q(0) = 0$.

b) Sens de variation de Q.

Pour déterminer le sens de variation de Q, il faut examiner le signe de la dérivée de Q.

$Q'(t) = -\,0{,}003 + 1/3e^{-t/6}$

$Q'(t) \geqslant 0 \Leftrightarrow -\,0{,}003 + 1/3e^{-t/6} \geqslant 0$

On obtient : $\Pi\left(\dfrac{h}{0,08}\right)=0,9945$

La lecture de la table donne $\dfrac{h}{0,08}=2,54$, soit $h=0,20$.

Partie B

1) Notons $\overline{x}_e$ et σ_e respectivement la moyenne et l'écart type de l'échantillon. Un calcul à la machine donne :

$$\overline{x}_e=72,37 \text{ et } \sigma_e=0,11$$

2) On sait que l'estimation ponctuelle $\hat{m}$ de la moyenne m des pesées est donnée par la moyenne de l'échantillon. Donc :

$$\hat{m}=\overline{x}_e=72,37$$

On sait aussi qu'une estimation ponctuelle $\hat{\sigma}$ de l'écart type des pesées est donnée à partir de l'écart type de l'échantillon à l'aide de la formule :

$$\hat{\sigma}=\sqrt{\frac{n}{n-1}}\sigma_e$$

où n représente l'effectif de l'échantillon, c'est-à-dire ici n = 10 (on obtient directement le résultat numérique avec la touche σ_{n-1} de la calculatrice).

Donc : $\hat{\sigma}=\sqrt{\dfrac{10}{10-1}}\times 0,11$, soit $\hat{\sigma}=0,12$.

3) On sait qu'un intervalle de confiance au seuil de 5 % de la moyenne m est :

$$\left[\overline{x}_e-1,96\frac{\hat{\sigma}}{\sqrt{n}};\ \overline{x}_e+1,96\frac{\hat{\sigma}}{\sqrt{n}}\right]$$

Numériquement : $\left[72,37-1,96\dfrac{0,12}{\sqrt{10}};\ 72,37+1,96\dfrac{0,12}{\sqrt{10}}\right]$

soit $[72,30;72,44]$.

4) a) La formule donnée à la question 3) reste valable en remplaçant $\hat{\sigma}$ par $\sigma=0,08$.

On obtient $\left[72,37-1,96\dfrac{0,08}{\sqrt{10}};\ 72,37+1,96\dfrac{0,08}{\sqrt{10}}\right]$

soit $[72,32;72,42]$.

b) On sait que l'intervalle de confiance de la moyenne des pesées au seuil α est donné par : $\left[\overline{x}_e - t_\alpha \frac{\sigma}{\sqrt{n}} ; \overline{x}_e + t_\alpha \frac{\sigma}{\sqrt{n}}\right]$

où t_α est tel que $P(-t_\alpha < T < +t_\alpha) = 1 - \alpha$ où T est une variable aléatoire qui suit une loi normale $\mathcal{N}(0,1)$. En identifiant l'intervalle de confiance théorique avec celui donné dans l'énoncé, on obtient :

$$\overline{x}_e - t_\alpha \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = 72{,}31 \Leftrightarrow 72{,}37 - t_\alpha \frac{0{,}08}{\sqrt{10}} = 72{,}31 \Leftrightarrow t_\alpha = 2{,}37$$

On aurait obtenu le même résultat en faisant le calcul avec la borne supérieure de l'intervalle. Nous devons donc avoir :

$$\begin{aligned} P(-t_\alpha < T < +t_\alpha) = 1 - \alpha &\Leftrightarrow P(-2{,}37 < T < +2{,}37) = 1 - \alpha \\ &\Leftrightarrow \Pi(2{,}37) - \Pi(-2{,}37) = 1 - \alpha \\ &\Leftrightarrow \Pi(2{,}37) - [1 - \Pi(2{,}37)] = 1 - \alpha \\ &\Leftrightarrow \Pi(2{,}37) = \frac{2-\alpha}{2} \end{aligned}$$

La table donne $\Pi(2{,}37) = 0{,}9911$.

On en déduit $\alpha = 2 - (2 \times 0{,}9911) = 0{,}0178$.

À l'unité près le risque est : $\alpha = 2$ %.

EXERCICE 2

Partie A

1) Le changement de variable proposé par l'énoncé donne le tableau suivant :

t_i	0	1	2	3	4	5	6
N_i	170	102	63	39	24	16	9
z_i	5,124	4,605	4,111	3,611	3,091	2,639	1,946

2) La calculette donne pour coefficient de corrélation linéaire : $R = -0{,}999$.

La calculette donne les coefficients de la droite de régression linéaire par la méthode des moindres carrés.

On obtient : $z = -0{,}517t + 3{,}590$.

3) La fonction exponentielle de base e étant la fonction réciproque de la fonction logarithme népérien, nous avons :

$\ln(N-2) = -0{,}517t + 3{,}590 \Leftrightarrow N - 2 = e^{-0{,}5187t+3{,}590} \Leftrightarrow N = e^{3{,}590} . e^{-0{,}517t} + 2$

soit : $N = 36{,}23e^{-0{,}517t} + 2$.

4) Nous devons résoudre l'inéquation : $36{,}23e^{-0{,}517t} + 2 < 3$.

$36{,}23e^{-0{,}517t} + 2 < 3 \Leftrightarrow e^{-0{,}517t} < 0{,}028 \Leftrightarrow -0{,}517t < \ln(0{,}028)$

$\Leftrightarrow -0{,}517t < \ln(0{,}028) \Leftrightarrow t > -\dfrac{\ln(0{,}028)}{0{,}517}$ soit $t > 7$.

Au bout d'environ 7 heures, c'est-à-dire au septième relevé, on obtiendra une valeur de N inférieure ou égale à 3.

Partie B

$N(t)$ est solution de $y' = \alpha(y - 2)$.

1) Solution générale de l'équation différentielle :

$y' = \alpha\,(y - 2)$

$y' - \alpha y = -2\alpha$

Solution générale de l'équation différentielle sans second membre $y' - \alpha y = 0$:

$y(t) = \beta e^{\alpha t}$ avec $\beta \in \mathbb{R}$.

Solution particulière de l'équation avec second membre $y' - \alpha y = -2\alpha$

$y(t) = 2$.

La solution générale de l'équation est $y(t) = \beta e^{\alpha t} + 2$ avec $(\alpha, \beta) \in \mathbb{R}$.

2) Solution qui prend la valeur 170 pour $t = 0$ et 9 pour $t = 6$.

$y(t) = \beta e^{\alpha t} + 2$.

$170 = \beta + 2 \rightarrow \beta = 168$

$9 = 168e^{6\alpha} + 2$

$168e^{6\alpha} = 7$

$e^{6\alpha} = 7/168$

$\alpha = 1/6\ \ln(7/168) = -0{,}53$

$\beta = 168$; $\alpha = -0{,}53$

La solution qui vérifie les données de l'énoncé est donc :

$$y(t) = 168e^{-0{,}53t} + 2$$

Partie C

1) Limite de $f(x)$ quand $x \rightarrow +\infty$.

$\lim^{x\to+\infty} -0{,}53x = -\infty$, or $\lim^{x\to-\infty} e^x = 0$

Donc, $\lim^{x\to+\infty} e^{-0{,}53x} = 0$

$\lim^{x\to+\infty} 168e^{-0{,}53x} = 0$

D'où, $\lim^{x\to+\infty} 168e^{-0{,}53x} + 2 = 2$

$\lim^{x\to+\infty} f(x) = 2$.

Interprétation géométrique : la droite d'équation $y = 2$ est une asymptote de la courbe représentative de f.

2) Variations de f sur $[0\ ;\ +\infty[$.

$f'(x) = -0,53 \cdot 168e^{-0,53x} = -89,04e^{-0,53x}$

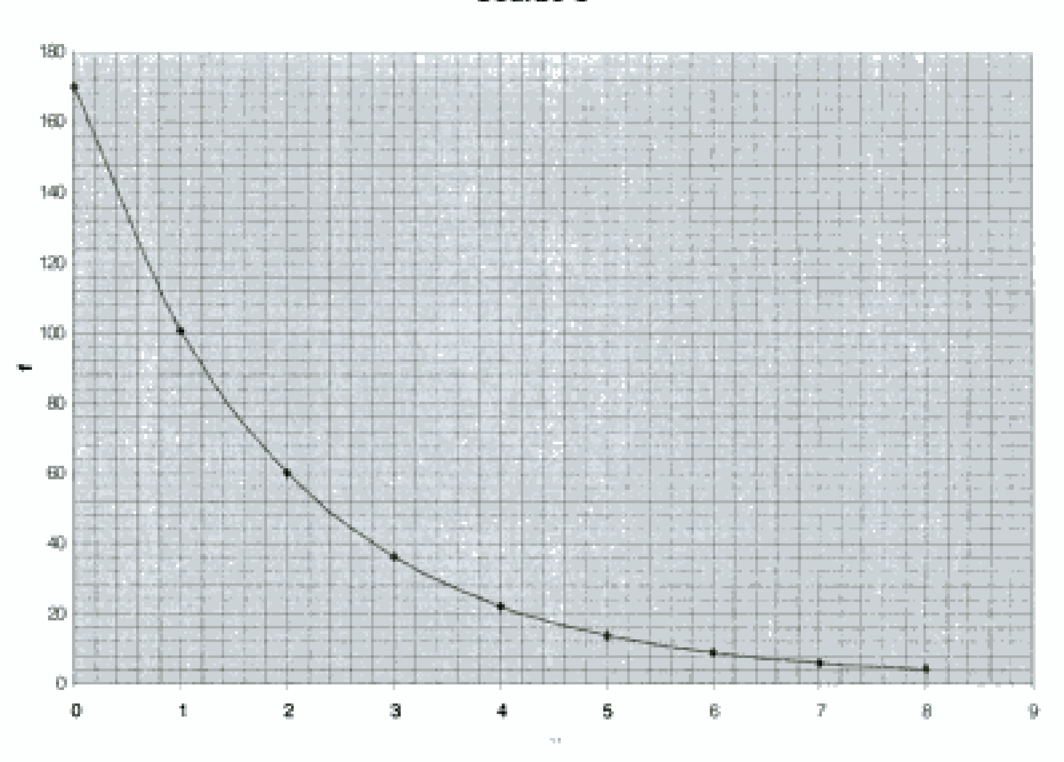
$e^{-0,53x} > 0$ donc $f'(x) < 0$ sur $[0\ ;\ +\infty[$

$\lim^{x \to 0} f(x) = 170.$

$\lim^{x \to +\infty} f(x) = 2.$

x	0		$+\infty$
f'		−	
f	170	↘	2

3) Courbe *(C)*.



4) Résolution de $f(x) \leqslant 30$.

$168e^{-0,53x} + 2 \leqslant 30 \Leftrightarrow e^{-0,53x} \leqslant 28/168 \Leftrightarrow -0,53x \leqslant \ln(28/168) \Leftrightarrow x \geqslant -1/0,53 \ln(28/168)$

$$f(x) \leqslant 30 \Leftrightarrow x \geqslant 3,38$$

Vérification graphique :

D'après la courbe pour $f(x) \leqslant 30$ on trouve $x \geqslant 3{,}4$.

Le résultat obtenu par le calcul est donc cohérent avec la représentation graphique.

5) Valeur moyenne de f sur l'intervalle [1 ; 6].

Appelons m cette valeur moyenne.

$$m = \frac{1}{6-1}\int_1^6 f(x)\,dx = \int_1^6 \left(168e^{-0,53x} + 2\right)dx$$

$$m = \frac{1}{5}\left[-\frac{168}{0,53}e^{-0,53x} + 2x\right]_1^6$$

$$m = \frac{1}{5}\left[-\frac{168}{0,53}e^{-0,53*6} + 12x + \frac{168}{0,53}e^{-0,53*1} - 2\right]$$

$$m = \frac{168}{2,65}\left[e^{-0,53} - e^{-3,18}\right] + 2 = 36,68$$

La valeur moyenne de f sur [1 ; 6] est 36,68.



SCIENCES PHYSIQUES

Sciences physiques

* Dans cet ouvrage, les pages comportant les corrigés sont repérées par la présence d'une bande grisée en marge.

SCIENCES PHYSIQUES 1995

(corrigé pp. 234-237)

1. Chimie générale

Soit la solution S obtenue par dissolution de $5,6 \times 10^{-3}$ mole d'hydrogénocarbonate de sodium dans 200 mL d'eau (la variation de volume est négligeable).

On donne : CO_2 dissous / HCO_3^- $pK_{A1} = 6,1$

HCO_3^-/CO_3^{2-} $pK_{A2} = 10,2$

1) a) Écrire les équations chimiques traduisant les équilibres acido-basiques correspondant à ces deux couples.

b) Écrire, pour chacun de ces deux couples, l'expression littérale de la constante d'acidité.

2) a) Démontrer la formule permettant de calculer le pH de la solution S et déduire la valeur de ce pH.

b) Quelle est l'influence de la concentration en hydrogénocarbonate sur le pH de cette solution ?

c) Quelle est, entre CO_2 dissous, HCO_3^- et CO_3^{2-}, l'espèce prédominante à ce pH ?

2. Chimie organique

On dispose de 4 flacons numérotés 1, 2, 3 et 4 contenant chacun l'un des quatre composés suivants :

1) Nommer ces quatre composés et préciser la fonction qui les caractérise.

2) On identifie les composés des flacons n° 1 et n° 2.

a) Le composé du flacon n° 2 présente un caractère basique. Écrire l'équation de la réaction du composé du flacon n° 2 avec l'eau, montrant sa basicité.

Identifier le composé du flacon n° 2.

b) Le composé du flacon n° 1 réagit avec le composé du flacon n° 2 pour donner une imine.

On rappelle que cette réaction est une addition nucléophile suivie d'une élimination d'eau.

Écrire l'équation de la réaction et détailler le mécanisme de l'addition nucléophile.

Identifier le composé du flacon n° 1.

3) On identifie les composés des flacons n° 3 et n° 4.

a) Le flacon n° 4 présente une acidité : le composé dissous possède un pK_A inférieur à 6; le flacon n° 3 présente une acidité non mesurable dans l'eau.

En justifiant votre réponse, identifier le composé de chacun des flacons n° 3 et n° 4.

b) Les composés des flacons n° 3 et n° 4 réagissent pour donner un composé de type :

R — C(=O)—OR'

Écrire l'équation de la réaction.

4) Parmi ces 4 composés, un seul présente une activité optique. Expliquer le terme « chiralité » et identifier le composé chiral. Justifier votre réponse.

3. Microscope optique

Un microscope est constitué d'un objectif et d'un oculaire assimilés respectivement à des lentilles minces L_1 et L_2 de distances focales $\overline{O_1F_1'} = f_1' = 0{,}4$ cm et $\overline{O_2F_2'} = f_2' = 2{,}5$ cm.

La distance entre les centres optiques est $\overline{O_1O_2} = 18{,}9\ \text{cm}$.

L'objectif L_1 donne d'un petit objet AB perpendiculaire à l'axe de l'instrument en A une image A_1B_1 située dans le plan focal objet de l'oculaire L_2. L'œil de l'observateur placé juste après F_2' observe l'image finale $A'B'$.

1) a) Construire sur un même schéma l'image A_1B_1 et l'image finale $A'B'$. Pourquoi cette position de A'B' est-elle bonne pour l'observateur dont la vue est « normale ».

b) Que se passerait-il si, au moyen de la vis micrométrique, on rapprochait progressivement l'objet du foyer objet F_1 de L_1 ?

c) Définir, sans calcul, la latitude de mise au point.

2) Le grandissement γ_1 de L_1 est tel que $|\gamma_1| = 40$, la dimension de l'objet observé est $AB = 10$ µm.

a) Sous quel angle serait vu l'objet à l'œil nu à la distance de 25 cm ?

b) Sous quel angle l'image $A'B'$ de cet objet est-elle vue à travers l'instrument ?

c) Calculer le grossissement commercial du microscope.

4. Sédimentation

La sédimentation est une technique permettant de séparer une dispersion de solide ou de liquide dans un liquide non miscible et de densité inférieure. L'opération peut se faire sous l'action de la pesanteur (figure 1) ou par centrifugation (figure 2). Dans les deux cas, les particules constituant les corps dispersés (gouttelettes ou grains) sont considérées comme sphériques et elles migrent dans les sens indiqués par les vecteurs-vitesses. Les valeurs de ces vitesses sont données par les expressions (1) et (2).

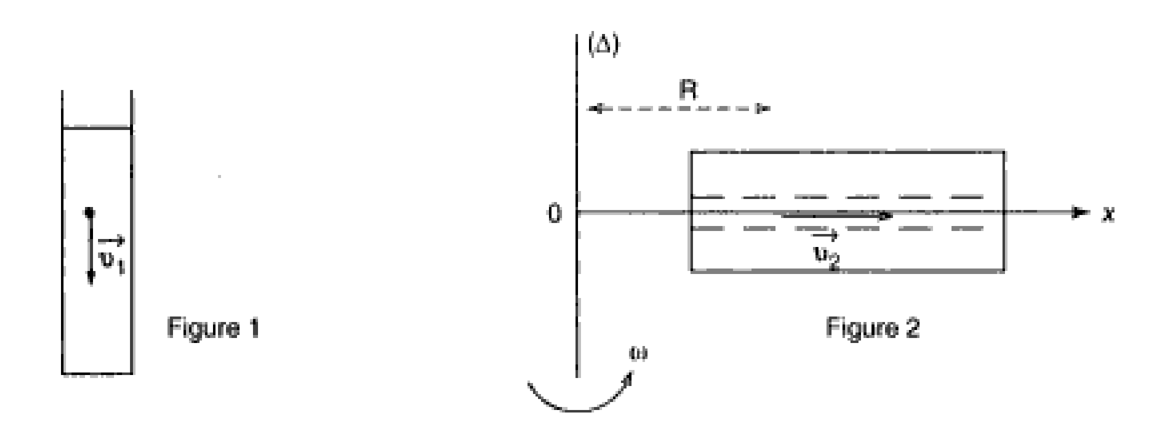


Figure 1

Figure 2

(1) $v_1 = \dfrac{2\,r^2(\rho - \rho_L)}{9\eta_L}\,g$ (2) $v_2 = \dfrac{2\,r^2(\rho - \rho_L)}{9\eta_L}\,a$

Dans les deux expressions, r représente le rayon d'une particule, ρ sa masse volumique, ρ_L celle du liquide, g l'accélération de la pesanteur (9,81 m.s^{-2}) et a celle due à la rotation.

1) Comment s'appelle la grandeur notée η_L ?

2) À un instant donné, la particule se trouve à une distance R de l'axe (Δ) et la vitesse angulaire de la centrifugeuse est ω. Calculer l'accélération $a = \omega^2 R$ si $R = 10$ cm et si la centrifugeuse tourne à 10 000 tr.min^{-1}.

3) Comparer ν_1 et ν_2, en déduire l'intérêt de la centrifugation.

4) Quelle est l'influence de la température sur la séparation ?
On donne $\eta_L = 10^{-3}$ Pa.s^{-1} à 20 °C et 6.10^{-4} Pa.s^{-1} à 45 °C.

SCIENCES PHYSIQUES 1996

(corrigé pp. 237-241)

1. Chimie générale : complexe – solubilité

Soit une solution contenant initialement 0,1 mol.L^{-1} de nitrate d'argent et 0,4 mol.L^{-1} d'ammoniac. On donne, pour le complexe $[Ag(NH_3)_2]^+$, pK_d = 7,2 et, pour le couple : NH_4^+/NH_3, pK_a = 9,2 et pK_e = 14.

1) Écrire les équations bilans des deux équilibres susceptibles de s'établir dans la solution et calculer leurs constantes d'équilibres respectives.

2) Montrer que l'on peut négliger l'action de NH_3 sur l'eau et calculer :
$[Ag^+]$, $[NH_3]$ et $[Ag(NH_3)_2^+]$ à l'équilibre.

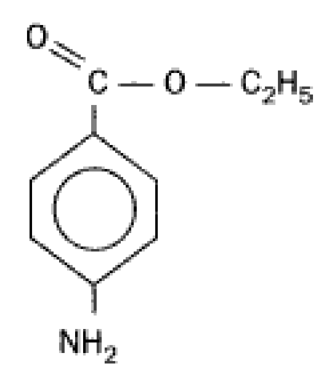
3) On s'intéresse à la solubilité du chlorure d'argent en solution aqueuse.
Calculer sa solubilité :

a) Dans l'eau pure (notée s en mol.L^{-1}).

b) Dans une solution à 1 mol.L^{-1} d'ammoniac (notée s' en mol.L^{-1}).
$K_s(AgCl) = 1,6.10^{-10}$; $K_d([Ag(NH_3)_2]^+) = 10^{-7,2}$.
On négligera la basicité de l'ammoniac.
Conclure.

2. Chimie organique : préparation d'un analgésique d'usage externe : la benzocaïne ou aminobenzoate d'éthyle

Formule semi-développée



1) On fait réagir du benzène avec du monochlorométhane, en présence de chlorure d'aluminium anhydre, $AlCl_3$. On obtient un composé *(A)*.

a) Écrire l'équation de la réaction et donner le nom du composé *(A)*.

b) Comment le catalyseur intervient-il dans la réaction ?

Détailler le mécanisme.

2) On effectue la mononitration du composé *(A)*.

On obtient un mélange de deux composés. Donner les formules de ces deux composés.

Soit *(B)* le composé para, que l'on isole.

3) Aurait-on obtenu ces mêmes composés en inversant l'ordre des réactions des questions 1) et 2) ?

4) On oxyde *(B)*. On obtient le composé *(C)*, que l'on réduit avec H_2 sur du nickel. On obtient le composé *(D)*.

Identifier *(C)* et *(D)* (formules et noms).

5) On estérifie le corps *(D)* obtenu avec de l'éthanol.

On obtient ainsi la benzoïne.

a) Écrire l'équation de la réaction.

b) Préciser les caractéristiques d'une telle réaction.

3. Photométrie

Données : $h = 6{,}62.10^{-34}$ J.s^{-1} ; $c = 3.10^{8}$ m.s^{-1} ; $e = 1{,}6.10^{-19}$ C

1 eV = $1{,}6.10^{-19}$ J.

1) Une cellule photoélectrique a une cathode recouverte de césium. Le travail d'extraction d'un électron du césium est de 1,9 eV.

a) On éclaire cette cathode par 2 radiations électromagnétiques 1 et 2 de longueurs d'onde $\lambda_1 = 750$ nm et $\lambda_2 = 540$ nm.

Quelle radiation permettra l'effet photoélectrique ? Justifier.

b) L'intensité de saturation I_s de la cellule photoélectrique est proportionnelle au flux énergétique reçu par la cathode. Le rendement quantique r de la cellule représente le rapport entre le nombre n d'électrons émis et le nombre N de photons reçus par la cathode.

Calculer I_s si le flux reçu par la cathode est de 0,5 mW pour la radiation λ_2 avec un rendement quantique $r = 2.10^{-3}$.

2) La cellule précédente est utilisée dans un spectrophotomètre.

a) Faire un schéma de principe d'un spectrophotomètre à simple faisceau, en précisant sommairement le rôle de chaque partie.

b) Après avoir fait le blanc avec une cuve d'eau distillée, on mesure avec une solution de $KMnO_4$ une absorbance $A = 0{,}52$.

En déduire le pourcentage du flux absorbé par le soluté.

c) On a travaillé avec une cuve d'épaisseur 1 cm et une solution de $KMnO_4$ de concentration 2.10^{-4} $mol.L^{-1}$.

En déduire l'absorbance linéique molaire (appelée parfois coefficient d'extinction molaire), en unité du système international, pour la longueur d'onde utilisée.

SCIENCES PHYSIQUES 1997

(corrigé pp. 242-245)

Exercice 1

Le benzaldéhyde, composé *A* de formule brute C_7H_6O, est un liquide incolore à forte odeur caractéristique d'amande amère. Aussi, est-il utilisé en parfumerie et comme arôme artificiel dans boissons et patisseries.

1) Écrire la formule semi-développée du composé *A*.

2) Quels tests peut-on envisager pour mettre en évidence la fonction aldéhyde ?

3) Propriétés oxydoréductrices du benzaldéhyde.

a) Le benzaldéhyde est facilement oxydé par le dioxygène de l'air en un solide blanc : ce composé *B* est utilisé comme additif alimentaire en tant que conservateur sous le code « E 210 ».

Préciser la formule et le nom du composé *B*.

b) Le benzaldéhyde peut être réduit par l'hydrure d'aluminium-lithium* en un liquide d'odeur agréable : ce composé *C* existe dans un assez grand nombre d'essences naturelles dont celle de fleur de jasmin.

Préciser la formule et le nom du composé *C*.

* hydrure d'aluminium-lithium : $LiAlH_4$.

4) Le composé *B* peut réagir avec le composé *C* pour donner le composé *D*. Le composé *D* est un antispasmodique utilisé contre la toux.

Écrire l'équation de la réaction.

Préciser les caractéristiques de cette réaction.

Identifier la fonction du composé *D*.

Exercice 2

Quand on plonge verticalement un tube capillaire de rayon r, dans un liquide de masse volumique ρ, dont la constante de tension superficielle est A, à température constante, on observe une ascension capillaire du liquide, de hauteur h.

D'après la loi de Jurin, $h = \frac{2A}{r \cdot \rho \cdot g}$ ($g = 9{,}81$ N.kg^{-1}).

1) Montrer que A peut s'exprimer en N.m^{-1}.

2) On plonge 4 tubes capillaires de diamètres différents dans le même liquide et on mesure pour chacun la hauteur h. On a trouvé les résultats suivants :

h en mm	12,1	15,1	20,1	30,2
r en mm	1,25	1,00	0,75	0,50

a) Montrer par un graphique approprié que cette expérience vérifie la loi de Jurin.

b) Déduire la constante de tension superficielle A à la température de l'expérience sachant que $\rho = 1\,000$ kg.m^{-3}.

Exercice 3

Le schéma ci-dessous représente le diagramme simplifié de quelques niveaux d'énergie de l'atome de sodium, le niveau 3 s correspondant à l'état fondamental.

La vapeur de sodium absorbe la radiation de longueur d'onde $\lambda_1 = 330{,}3$ nm.

Lorsque les atomes se désexcitent, ils émettent les radiations de longueur d'onde :

$$\lambda_1 = 330{,}3 \text{ nm} \qquad \lambda_2 = 589 \text{ nm} \qquad \lambda_3 = 2\,208{,}4 \text{ nm} \qquad \text{et} \qquad \lambda_4.$$

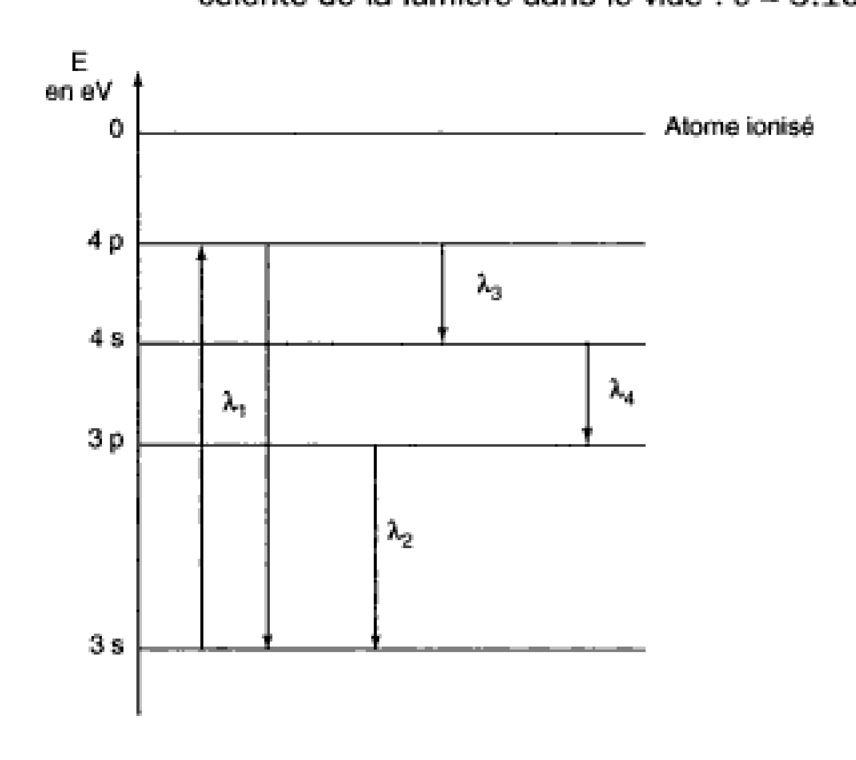
1) À quels domaines des ondes lumineuses appartiennent les radiations de longueurs d'onde λ_1, λ_2, λ_3 ?

2) Expliquer le phénomène de l'absorption de λ_1 et celui de l'émission de λ_3.

3) Sachant que l'énergie d'ionisation de l'atome de sodium dans son état fondamental est de 5,14 eV, en déduire l'énergie du niveau 3s et calculer les énergies des niveaux 3*p*, 4*s* et 4*p*.

4) Calculer la longueur d'onde λ_4.

Données numériques : – constante de Planck : $h = 6{,}62.10^{-34}$ J.s^{-1}
– charge élémentaire : $e = 1{,}6.10^{-19}$ C
– célérité de la lumière dans le vide : $c = 3.10^{8}$ m.s^{-1}.



Exercice 4

1) L'eau oxygénée peut se décomposer selon la réaction dont l'équation est :

$$2\ H_2O_2 \underset{2}{\overset{1}{\rightleftarrows}} 2\ H_2O + O_2$$
$$(l) \qquad\qquad (l) \qquad (g)$$

a) Calculer, en veillant aux unités, les variations des grandeurs thermodynamiques $\Delta H°$, $\Delta S°$, $\Delta G°$ lors de la réaction dans le sens 1.

	$\Delta_f H°$ (kJ.mol^{-1})	$S°$ (J.mol^{-1}.K^{-1})
H_2O_2 (liq)	– 187,6	143
H_2O (liq)	– 285,6	70
O_2 (gaz)	0	205

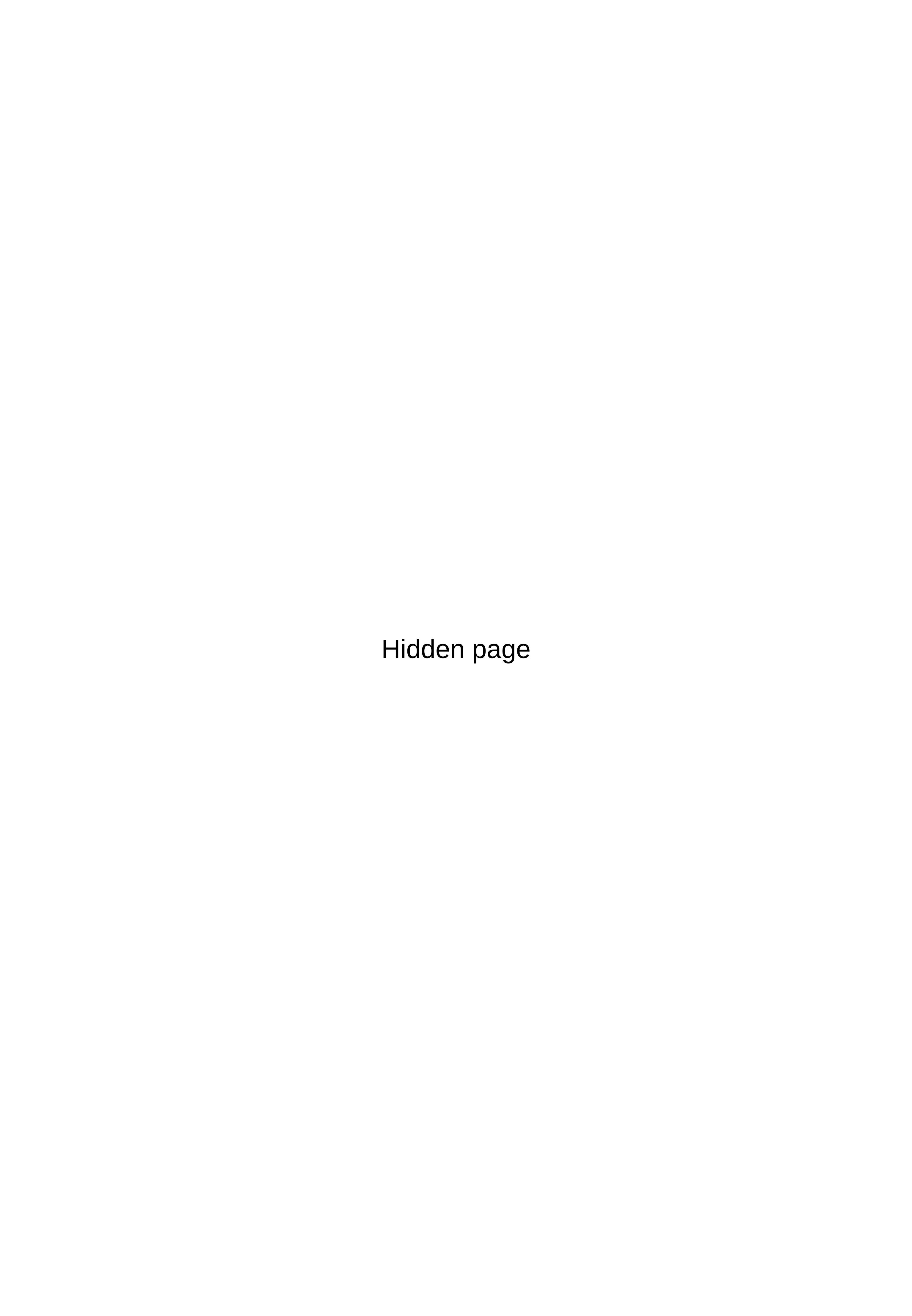
Toutes les données sont à 25 °C

b) Quelle grandeur permet de prévoir le sens de la reaction spontanée ? L'eau oxygénée est-elle stable dans les conditions standard ?

2) Pour confirmer la conclusion précédente, on utilise les potentiels standard des 2 couples redox.

H_2O_2/H_2O $\quad E_1° = 1{,}77$ V $\quad$ à 25 °C

O_2/H_2O_2 $\quad E_2° = 0{,}68$ V


Hidden page

a) Écrire l'équation de la réaction du dosage.

Donner la définition de l'équivalence acido-basique.

b) Déterminer graphiquement le point d'équivalence E. Préciser ses coordonnées. En déduire la concentration de la solution acide.

c) Déterminer graphiquement le pK_a du couple $CH_2ClCOOH/CH_2ClCOO^-$ en justifiant votre réponse.

Donnée : on prendra $Ke = 10^{-14}$.

Exercice 2 : thermochimie et oxydoréduction

On rappelle les relations valables à la température T fixée :

$$\Delta G = -nFE$$

$$\Delta G = \Delta G° + RT\ln K$$

Données : $F = 96\,500$ C; $R = 8{,}31$ $J.mol^{-1}.K^{-1}$.

1) En solution aqueuse, dans les conditions standard à 25 °C, les ions Fe^{2+} et Fe^{3+} participent aux couples :

couple 1 : Fe^{3+}/Fe^{2+} $E_1° = 0{,}77$ V
couple 2 : Fe^{2+}/Fe $E_2° = -0{,}44$ V

a) Écrire les deux demi-équations électroniques.

Écrire l'équation bilan de la réaction spontanée *(1)* qui se produit entre ces deux couples.

b) Donner l'expression de la constante d'équilibre K de la réaction précédente en fonction des concentrations.

2) La thermodynamique permet de calculer K à partir des potentiels standard d'oxydoréduction.

Exprimer $\Delta G_1°$ pour le couple 1, en fonction de $E_1°$.

Exprimer $\Delta G_2°$ pour le couple 2, en fonction de $E_2°$.

En déduire l'expression de ΔG de la réaction *(1)*. Calculer sa valeur à 25 °C; en déduire la valeur de K. Conclure.

Exercice 3 : chimie organique

Le jasmin artificiel peut être synthétisé à partir de l'acide 3-phénylprop-2-énoïque : $C_6H_5 - CH = CH - COOH$ dont le nom courant est l'acide cinnamique.

1) Représenter et nommer les deux isomères de cet acide.

2) Par addition de dibrome sur la double liaison, l'acide cinnamique donne un composé B.

Écrire l'équation de la réaction.

Nommer le composé *B*.

Combien de carbones asymétriques présente-t-il ? Les repérer sur la formule semi-développée.

Combien de stéréo-isomères dénombrera-t-on ?

3) Par chauffage en milieu basique une molécule de *B* donne une molécule de HBr, une molécule de CO_2 et une molécule de jasmin artificiel noté *C*. *C* est un composé monobromé présentant 2 diastéréo-isomères *Z* et *E*.

Donner la formule de *C* et écrire l'équation de la réaction.

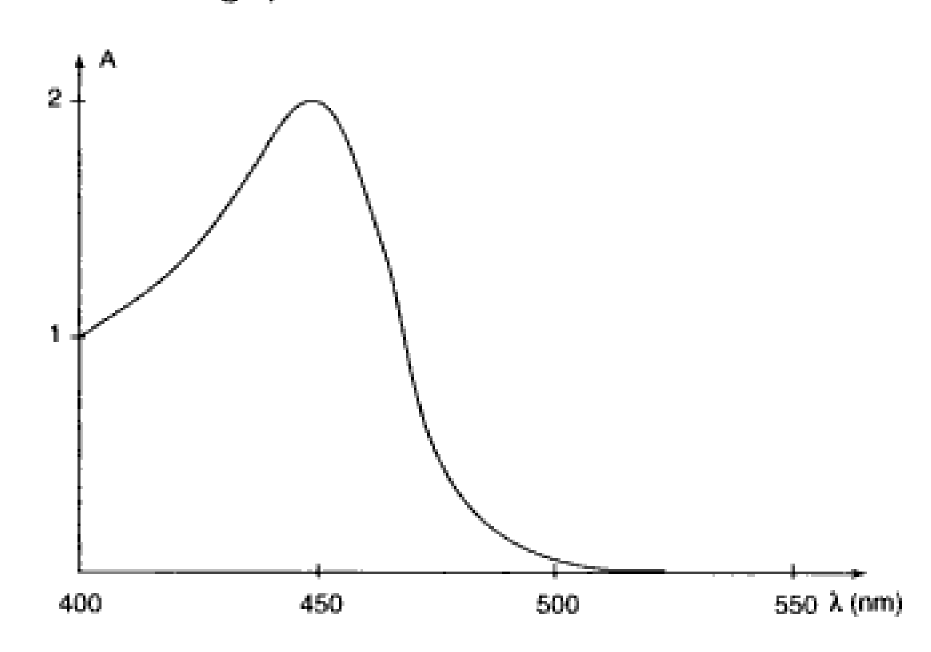
Exercice 4 : spectrophotomètre d'absorption

1) a) Quelle est la relation de définition de la transmittance *T* d'un milieu ?

Donner la relation liant l'absorbance *A* à la transmittance.

b) Exprimer la loi de Beer-Lambert en précisant chaque facteur ainsi que son unité dans un système cohérent.

2) On désire doser des solutions d'acide picrique. On réalise au préalable un spectre d'absorption avec une solution à 1,45 $g.L^{-1}$ et une cuve de largeur 1 cm. Les résultats conduisent au graphe suivant :



λ (nm)	400	425	450	475	500	550
A	1,00	1,40	2,00	0,46	0,05	0

a) Comment choisit-on la longueur d'onde de travail λ_t ? Justifier ce choix.

b) À cette longueur d'onde, calculer le coefficient d'absorbance linéique molaire. La masse molaire de l'acide picrique est 229 $g.mol^{-1}$.

3) En se plaçant à la longueur l'onde λ_r précédente, on dose une solution *(S)* d'acide de concentration inconnue. La solution est toujours placée dans une cuve de largeur 1 cm, l'absorbance vaut alors $A = 0{,}23$.

Déterminer la concentration de *(S)*.

4) La radiation de longueur d'onde λ_r est obtenue à partir d'un réseau à 500 traits par millimètre qui fonctionne en transmission.

a) Donner la formule du réseau en précisant sur un schéma les angles et convention de signe.

b) Le réseau reçoit de la lumière blanche en incidence normal. On veut sélectionner la radiation λ_r dans le spectre d'ordre 1.

Calculer l'angle d'émergence correspondant à cette radiation.

SCIENCES PHYSIQUES 1995

1. Chimie générale

En dissolvant $5,6.10^{-3}$ mole de $NaHCO_3$ dans 200 mL d'eau, la solution obtenue a pour concentration $C = 5,6.10^{-3}/0,2 = 0,028$ mol/L.

1) a) CO_2 dissous peut s'écrire H_2CO_3. Les équations bilans des équilibres acide/base sont donc :

$$H_2CO_3 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H_3O^+ \qquad pK_{A1} = 6,1$$

$$HCO_3^- + H_2O \rightleftharpoons CO_3^{2-} + H_3O^+ \qquad pK_{A2} = 10,2$$

$$2H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + HO^- \qquad pK_e = 14$$

b) On a :

$$K_{A1} = \frac{[HCO_3^-].[H_3O^+]}{[H_2CO_3]} = 10^{-6,1}$$
$$K_{A2} = \frac{[CO_3^{2-}].[H_3O^+]}{[HCO_3^-]} = 10^{-10,2}$$

2) a) On a une solution d'ampholyte.

Par l'électroneutralité on a : $[HCO_3^-] + 2[CO_3^{2-}] + [HO^-] = [H_3O^+] + [Na^+]$

Par la concentration de la matière, on a :

$$[H_2CO_3] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] = C = [Na^+]$$

En remplaçant dans l'électroneutralité, cela donne :

$$[CO_3^{2-}] + [HO^-] = [H_3O^+] + [H_2CO_3]$$

Hypothèse : on néglige $[HO^-]$ et $[H_3O^+]$ devant les autres espèces.

Cela donne : $[H_2CO_3] = [CO_3^{2-}]$

En faisant le produit $K_{A1}.K_{A2} = \frac{[HCO_3^-].[H_3O^+]}{[H_2CO_3]}.\frac{[CO_3^{2-}].[H_3O^+]}{[HCO_3^-]} = [H_3O^+]^2$

on obtient : pH = 1/2 $(pK_{A1} + pK_{A2})$ = **8,15**

Vérification des hypothèses :

$[H_3O^+] = 10^{-8,15} = 7,1.10^{-9}$ mol/L et $[HO^-] = 1,4.10^{-6}$ mol/L.

Si l'ampholyte est l'espèce majoritaire dans le milieu, $[HCO_3^-] = C$.

En reportant dans K_f, cela donne :

$$K_f = \frac{[Ag(NH_3)_2^+]}{[Ag^+].[NH_3]^2} = \frac{s'^2}{K_s.(1-2s')^2} \text{ ou } K_f.K_S = s'^2/(1-2s')^2$$

Ce qui s'écrit : $s'/(1 - s') = 19{,}86$ et donc $s' = 0{,}046$ mol/L

On peut calculer : $[Ag^+] = K_s/s' = 3{,}47.10^{-9}$ mol/L,

ce qui est bien négligeable devant $[Ag(NH_3)_2^+] = s' = 0{,}046$ mol/L.

La complexation consomme des ions Ag^+, ce qui déplace l'équilibre de solubilité dans le sens de la production de ces ions Ag^+ et donc augmente le solubilité.

2. Chimie organique : préparation d'un analgésique d'usage externe : la benzocaïne ou aminobenzoate d'éthyle

1) a) Bilan :

Composé *A*

b) Le catalyseur sert à former l'agent électrophile :

$$CH_3Cl + AlCl_3 \longrightarrow CH_3^+ + AlCl_4^-$$

Intermédiaire de Wheland
$AlCl_4^-$

$$H^+ + AlCl_4^- \longrightarrow AlCl_3 + HCl$$

b) On obtient les deux composés suivants :

Le groupe $-CH_3$ est un groupe activant faible qui oriente en ortho-para.

3) En inversant l'ordre des réactions, on n'aurait pas pu obtenir les mêmes composés car, en fixant d'abord le groupe nitro, c'est lui qui aurait orienté la seconde substitution. Mais comme il est désactivant et méta-orienteur, on aurait obtenu préférentiellement la composé méta.

4)

Ce composé *C* par réduction (H_2 en présence de nickel) donne l'acide paraaminobenzoïque *D* :

5) On a la réaction d'estérification :

Une telle réaction est équilibrée, lente, athermique, catalysée par les acides forts. Les proportions d'ester obtenu dépendent de la classe de l'alcool et non de la nature de l'acide.

3. Photométrie

1) a) L'énergie transportée par un photon doit être au moins égale au travail d'extraction pour pouvoir arracher un électron.

La longueur d'onde maximale est donc donnée par $Wo = hc/\lambda_{max}$

D'où : $\lambda_{max} = 6{,}62 \times 10^{-34} \times 3 \times 10^{8} / \ 1{,}9 \times 1{,}6 \times 10^{-19} = 653$ nm

Seul un rayonnement de longueur d'onde plus faible permettra l'effet photoélectrique. Donc seule $\lambda = 540$ nm convient.

b) Pour l'intensité de saturation on a : $Is = ne$, n étant le nombre d'électrons émis par seconde et e la valeur absolue de la charge d'un électron.

Le flux énergétique ϕ s'exprime par $N.h.\nu$, N étant le nombre de photons reçus par seconde à la cathode et ν la fréquence des photons. De plus, $\nu = c/\lambda$.

Le rendement quantique r est égal à n/N.

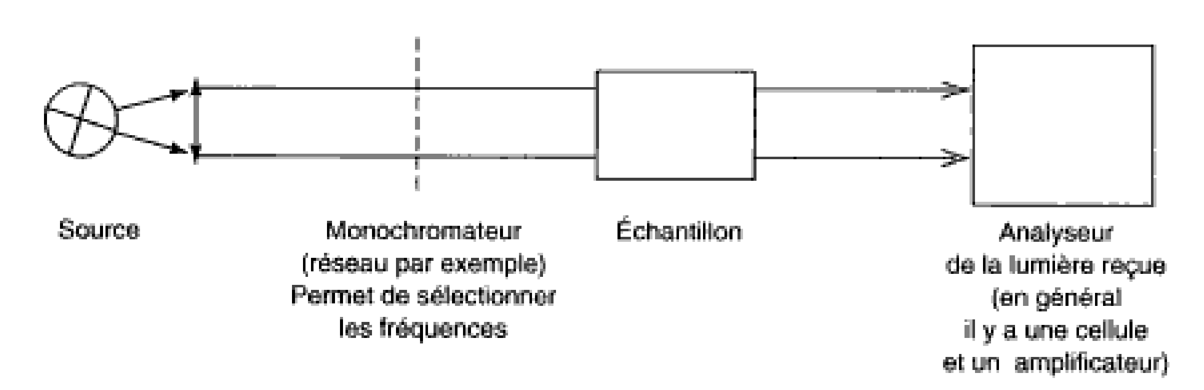
D'où : $Is/\phi = r.e/h.\nu = r.e.\lambda/h.c$

$= 2 \times 10^{-3} \times 1{,}6 \times 10^{-19} \times 540 \times 10^{-9}/6{,}62 \times 10^{-34} \times 3 \times 10^{8}$

$= 8{,}7 \times 10^{-4}$ A.s/J

et $Is = 4{,}35 \times 10^{-7}$ A

2) a)



b) On a $A = \log 1/T$, T étant la transmittance (T = Io/I).

D'où : $T = 0{,}302 = 30{,}2$ %.

Le flux absorbé vaut donc 69,8 %.

c) Longueur de la cuve $l = 1$ cm. Concentration $C = 2 \times 10^{-4}$ mol/L.

Loi de Beer Lambert : $A = \varepsilon.C.l$, ε étant l'absorbance linéïque molaire.

Donc on trouve en exprimant la concentration en mol/m^3 (unité du système international) :

$$\varepsilon = A/C.l = 0{,}52/10^{-2} \times 0{,}2 = 260 \text{ m}^2/\text{mol}$$

SCIENCES PHYSIQUES 1997

Exercice 1

1) *A* : benzaldéhyde C_6H_5–CHO

2) – Test de la liqueur de Fehling : ions cuivre II complexés par des ions tartrate. Il se forme un précipité rouge d'oxyde de cuivre I.

– Test du miroir d'argent : l'action du nitrate d'argent ammoniacal provoque l'apparition d'argent qui se dépose sur les parois du tube à essai et forme un miroir.

3) Propriétés oxydo-réductrices du benzaldéhyde.

a) Le benzaldéhyde est facilement oxydé en acide benzoïque C_6H_5–COOH.

b) Le benzaldéhyde peut être réduit en 1-phénylméthanol (alcool benzylique) C_6H_5–CH_2OH par l'hydrure de lithium et d'aluminium.

4) Il s'agit de la réaction d'estérification organique :

$$C_6H_5COOH + C_6H_5CH_2OH \rightleftharpoons C_6H_5COOCH_2C_6H_5 + H_2O$$

Cette réaction est :

– lente; elle nécessite donc un catalyseur qui est un acide fort : H_2SO_4 par exemple,

– athermique (la température n'agit pas sur les proportions à l'équilibre),

– renversable,

– les proportions à l'équilibre dépendent surtout de la classe de l'alcool et très peu de la nature de l'acide carboxylique. Si on part de proportions stœchiométriques, on obtient 67 % d'ester pour un alcool primaire, 60 % pour un alcool secondaire et 0 à 5 % pour un alcool tertiaire.

D comporte donc la fonction ester.

Exercice 2

Loi de Jurin : $h = \dfrac{2A}{r \cdot \rho \cdot g}$

1) En utilisant les dimensions des grandeurs intervenant dans la formule donnée on peut déterminer leurs unités et donc l'unité de *A*.

$A = \dfrac{h \cdot r \cdot g \cdot \rho}{2}$ *r* et *h* : longueurs en mètre; ρ : masse volumique en $kg.m^{-3}$; *g* : constante de la pesanteur en $N.m^{-1}$. 2 est un nombre sans unité.

L'unité de *A* s'exprime donc par : $m.m.N.kg^{-1}.kg.m^{-3}$ c'est à dire en $N.m^{-1}$.

b) Dans les conditions standard, l'oxydant du couple de potentiel standard le plus élevé réagit spontanément avec le réducteur de potentiel standard le plus faible. Donc ici, l'eau oxygénée réagit sur elle-même.

$$2\ H_2O_2 \rightleftharpoons 2H_2O + O_2 \qquad (3)$$

c) Il y a additivité des enthalpies libres de réaction : $\Delta G_3^\circ = \Delta G_3^\circ - \Delta G_2^\circ$.

Comme dans le sens : oxydant + ne → red, on a la relation $\Delta G^\circ = -nFE^\circ$, on peut écrire :

$\Delta G_3^\circ = -2FE_1^\circ + 2FE_2^\circ = -210{,}4$ kJ/mol

On obtient bien un résultat très proche de la valeur calculée précédemment.

d) On a la relation $\Delta G^\circ = -RT\ln K$.

D'où $\ln K = -210{,}4 \times 10^3/8{,}32 \times 298 = -84{,}9$ et donc $K = 7{,}1.10^{36}$

Cette constante d'équilibre est très grande. La réaction (1) de dismutation de l'eau oxygénée peut donc être considérée comme totale.

SCIENCES PHYSIQUES 1998

Exercice 1

1) La leucine a pour formule semi-développée :

```
CH3–CH–CH2–C*H–COOH
    |       |
    CH3     NH2
```

Elle possède deux groupes fonctionnels : – COOH groupe acide ;
– NH_2 groupe amine.

Elle fait partie des acides α-aminés.

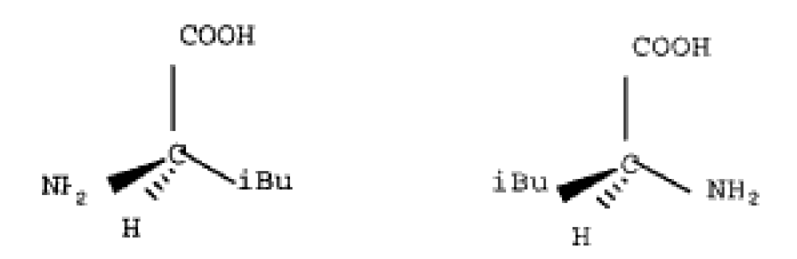
2) Acide 2-amino-4-méthylpentanoïque.

3) Cette molécule possède un carbone asymétrique (marqué d'un astérisque). Ce carbone est en effet lié à quatre groupes différents. Elle est donc chirale.

4) On note iBu le groupe.

```
CH3–CH–CH2
    |
    CH3
```

Les deux stéréo-isomères sont donc :



5) Ces deux stéréo-isomères de configuration peuvent agir sur la lumière polarisée rectilignement en faisant tourner le plan de polarisation de cette lumière. Quand l'observateur voit la lumière polarisée arriver vers lui, un de ces stéréo-isomères fait tourner le plan de polarisation vers la droite (il est dit alors dextrogyre) et l'autre vers la gauche (il est dit lévogyre). Ces stéréo-isomères sont appelés des énantiomères.

6) Configuration absolue d'un carbone asymétrique : on commence par classer les groupes par ordre de priorité à l'aide des règles de Cahn, Ingold et Prélog.

On cherche les numéros atomiques des atomes directement liés au carbone asymétrique (atomes de rang 1). Celui qui a la valeur la plus grande correspond au groupe prioritaire. Et ainsi de suite jusqu'au groupe le moins prioritaire.

Si des atomes de rang 1 ont le même numéro atomique, on classe les atomes directement liés à ceux de rang 1 (atomes de rang 2) en considérant comme prioritaire toujours celui de numéro atomique le plus élevé. Une liaison double compte pour deux atomes et une triple pour trois.

On note souvent 1 le premier groupe prioritaire, 2 celui qui le suit, 3 celui encore après et 4 le groupe le moins prioritaire.

Ici nous obtenons donc : atomes de rang 1 : N, C et H. Les numéros atomiques étant respectivement 7, 6 et 1, on peut déjà classer les groupes : $-NH_2$: groupe 1 (le plus prioritaire) et –H : groupe 4 (le moins prioritaire).

Il reste les groupes iBu et –COOH qui commencent tous les deux par des carbones. Les atomes de rang 2 sont pour iBu : deux carbones et un hydrogène et pour –COOH : trois oxygène. Le numéro atomique de l'oxygène étant supérieur à celui du carbone, c'est ce groupe –COOH qui est donc le numéro 2 et le groupe –iBu qui est numéro 3.

D'où : $-NH_2$ > –COOH > –iBu > –H

On regarde le carbone asymétrique de telle sorte que le groupe 4 soit placé derrière le carbone. Le carbone asymétrique est dit de configuration absolue *(R) rectus* si, pour passer du groupe 1 au groupe 2 puis au groupe 3, on tourne dans le sens des aiguilles d'une montre (ou sens inverse du sens trigonométrique). Sinon, le carbone asymétrique est de configuration absolue *(S) sinister*.

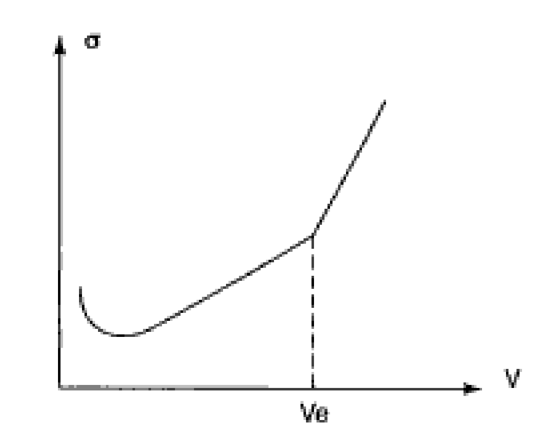
–Au tout début du dosage, HCOOH étant un peu dissocié, des ions H_3O^+ réagissent avec OH^- et disparaissent du milieu; ils sont remplacés par des ions Na^+ de conductivité ionique limite molaire beaucoup plus faible. La conductivité diminue donc légèrement.

Puis c'est la réaction de l'acide méthanoïque sur la soude qui se produit.

– Avant l'équivalence, tout revient à remplacer des molécules non conductrices (HCOOH) par des ions Na^+ et $HCOO^-$ de conductivité ionique molaire moyenne. La conductivité augmente, mais pas très fortement.

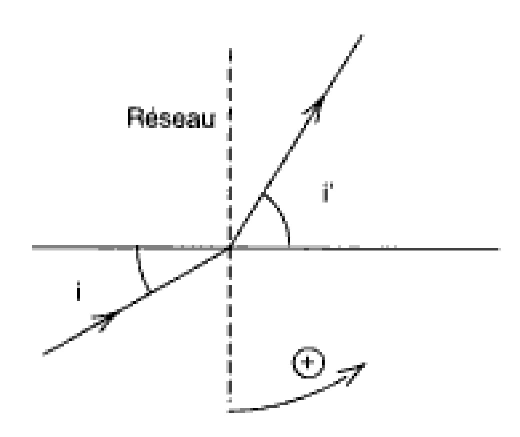
– Après l'équivalence, on ajoute des ions Na^+ et surtout des ions OH^- de forte conductivité ionique molaire. La conductivité augmente donc beaucoup plus fortement.

b) Allure de la courbe de dosage $\sigma = f$ (volume V de base versée).



Exercice 3

1)



Avec les orientations choisies, on a : $\sin i' - \sin i = \dfrac{K\lambda}{a}$. Puisqu'on s'intéresse à l'ordre 1, on a $k = 1$.

a est le pas du réseau et vaut $10^{-3}/800 = 1{,}25.10^{-6}$ m.

On a donc : $\sin i_1' = \sin 15 + 1 \times 568 \times 10^{-9}/\ 125 \times 10^{-6} = 0{,}7132$, et $i_1' = 45{,}5°$

De même : $\sin i_2' = 0{,}7308$; $i_2' = 47{,}0°$

$\sin i_3' = 0{,}7516$; $i_3' = 48{,}7°$

2) Le pouvoir de résolution est donné par $R = \lambda/\Delta\lambda = kN$, N étant le nombre total de traits du réseau.

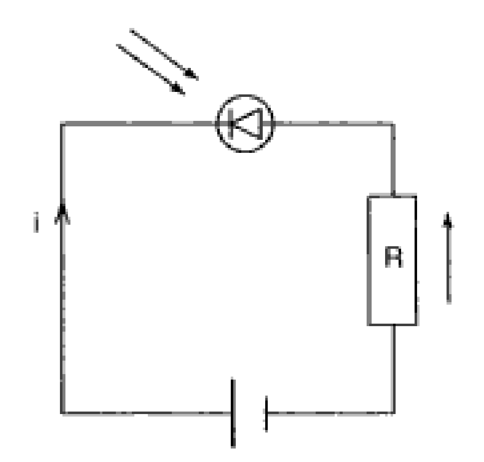
$$N = 40 \times 800 = 32\,000 \text{ traits. On a } k = 1.$$

Le pouvoir de résolution vaut donc : $R = 32\,000$

Pour la longueur d'onde la plus proche de celle du doublet du sodium (590 nm), on a $\Delta\lambda = 590/32\,000 = 1{,}84.10^{-2}$ nm. Ce réseau pourra donc séparer les deux raies du doublet du sodium séparées par 0,6 nm.

Exercice 4

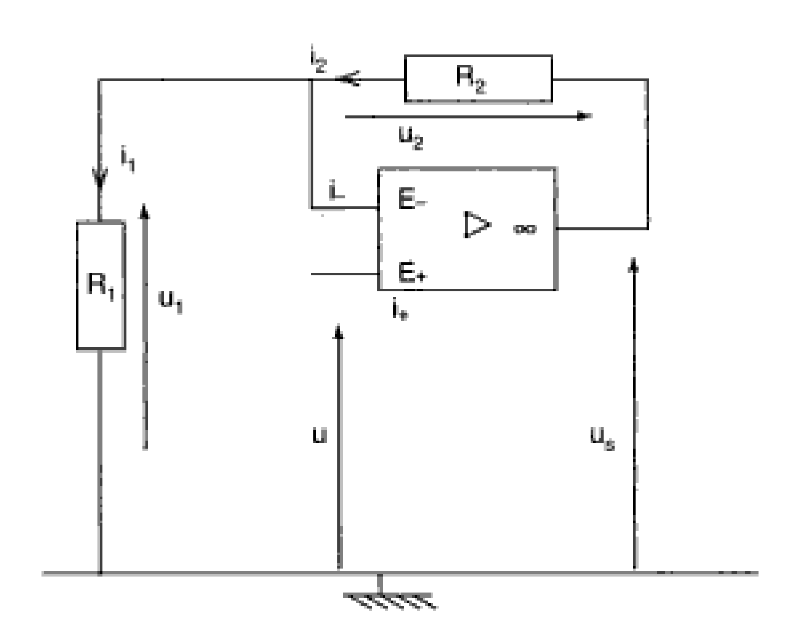
1) De part la loi d'Ohm et les orientations choisies, on a : $u = Ri$.



Comme l'intensité est proportionnelle au flux lumineux Φ reçu par la photodiode, on peut écrire : $i = k\Phi$.

D'où : $u = kR\Phi = k'\Phi$. La tension u est bien proportionnelle au flux Φ.

2) On a $U_{E+} = U_{E-}$ et $i_+ = i_- = 0$.



a) D'après le schéma, on a $U_{E+} = u = U_{E-}$

D'où : $u - u_1 = 0$ et donc $u = R_1 i_1$

De même : $u_S - u_2 - u = 0$ et $u_2 = R_2 i_2$

D'où : $u_S = u + u_2 = u + R_2 i_2$

Comme $i_1 = i_2$ car $i_- = 0$, on a $i_1 = u/R_1$ que l'on remplace dans la seconde équation :

$$u_S = (R_1 + R_2)i_1 \text{ donc } u_S = (R_1 + R_2)u/R_1$$

b) *A.N.* $u_S = 100u$; $R_1 = 100\ \Omega$;

d'où $(R_1 + R_2) = 100R_1$ et $R_2 = 99R_1 = 9\ 900\ \Omega$

c) Par la question 1, on sait que $u = k'\Phi$.

Comme $u_S = (R_1 + R_2)u/R_1$, cela implique :

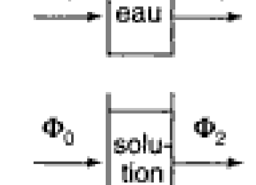
$u_S = K\Phi$, avec $K = k'(R_1 + R_2)/R_1$

$k' = Rk$; d'où : $K = kR(R_1 + R_2)/R_1$

3) On va appliquer la définition de la transmittance et la loi de Beer Lambert.

Dans la première expérience, on a $u_{S1} = K\Phi_1 = 100$ mV.

Dans la seconde expérience, on a : $u_{S2} = K\Phi_2 = 40$ mV.



Par définition, la transmittance T est égale au rapport du flux lumineux après traversée de la cuve au flux lumineux initial.

On a donc : $T_1 = \Phi_1/\Phi_0$ et $T_2 = \Phi_2/\Phi_0$. Les absorbances correspondantes sont alors : $A_1 = \log 1/T_1$ et $A_2 = \log 1/T_2$. Comme il y a additivité des absorbances, l'absorbance de X est égale à celle de la solution moins celle de l'eau distillée :

$$A_X = A_2 - A_1 = \log T_1/T_2 = \log \Phi_1/\Phi_2 = \log 1/T_X$$

D'où la transmittance de X est donc : $T_X = \Phi_2/\Phi_1 = u_{S2}/u_{S1}$

A.N. $T_X = 40/100 = 0{,}4$ et $A_X = \log 1/0{,}4 = 0{,}398$

D'après la loi de Beer Lambert, on a $A = \varepsilon Cl$ avec $\varepsilon = 30\ \text{mol}^{-1}.\text{m}^2$ et $l = 0{,}01$ m.

d'où : $C = 0{,}398/30 \times 10^{-2} = 1{,}33\ \text{mol.m}^{-3} = 1{,}33 \times 10^{-3}\ \text{mol.L}^{-1}$

SCIENCES PHYSIQUES 1999

Exercice 1 : cinétique

1) Réaction de saponification.

Le bilan est donc : $[Ag^+] = 0{,}04$ mol/L et $[Fe^{2+}] = 0{,}04$ mol/L.

On en déduit les nouveaux potentiels d'électrode :

$E_1 = -0{,}44 + 0{,}03 \log 0{,}04 = -0{,}48$ V et $E_2 = 0{,}8 - 0{,}06 \log 0{,}04 = 0{,}72$ V.

On en déduit la f.é.m. de la pile : $E = 0{,}72 - (-0{,}48) = 1{,}20$ V

5) Quand la pile est usée, la réaction ne se fait plus et il y a donc équilibre chimique.

La constante d'équilibre de la réaction $2Ag^+ + Fe \rightleftharpoons 2Ag + Fe^{2+}$ est définie par :

$$K = \frac{[Fe^{2+}]_{\text{équilibre}}}{[Ag^+]^2_{\text{équilibre}}}$$

La f.é.m. de la pile est nulle. Les potentiels des deux couples redox sont alors égaux.

D'où : $E_1 = E_1^0 + \frac{0,06}{2}\log[Fe^{2+}] = E_2 = E_2^0 + 0,06\log[Ag^+] = E_2^0 + \frac{0,06}{2}\log[Ag^+]^2$

Les concentrations intervenant sont celles à l'équilibre.

On obtient : $E_2^0 - E_1^0 = \frac{0,06}{2}\log[Fe^{2+}]_{\text{équilibre}} - \frac{0,06}{2}\log[Ag^+]^2_{\text{équilibre}}$

$$= \frac{0,06}{2}\log\frac{\left[Fe^{2+}\right]_{\text{équilibre}}}{\left[Ag^+\right]^2_{\text{équilibre}}} = 0,03\log K$$

Ce qui donne : $\log K = \frac{E_2^0 - E_1^0}{0,03} = \frac{0,80-(-0,44)}{0,03} = 41,33$. D'où $K = 2,15 \times 10^{41}$

Cette valeur est très supérieure à 10^4. La réaction est bien totale.

Exercice 3

Composé A : R — CH(NH$_2$) — COOH R : groupe alkyle C_nH_{2n+1}

```
R — CH — COOH
    |
    NH2
```

1) Ce composé est un acide α aminé. Il possède la fonction acide carboxylique (–COOH) et la fonction amine primaire ($-NH_2$).

2) $M = M(R) + M(CHCOOHNH_2) = M(R) + (12 + 1 + 12 + 32 + 1 + 14 + 2) = M(R) + 74 = 117$.

D'où : $M(R) = 117 - 74 = 43$ g/mol. Comme R a pour structure C_nH_{2n+1}, cela implique : $12n + 2n + 1 = 43$ et donc $n = 3$.

On a : $C_3H_7CH(COOH)NH_2$. Les formules semi-développées possibles pour A sont alors :

Exercice 3 : chimie organique

1) Acide 3-phénylpro-2-énoïque : ce composé possède une isomérie géométrique. Les deux diastéréo-isomères sont :

```
C6H5       COOH          C6H5       H
    \     /                  \     /
     C = C                    C = C
    /     \                  /     \
   H       H                H       COOH
 Composé (Z)                 Composé (E)
```

Les groupes prioritaires sont : C_6H_5 > H et COOH > H.

2) Il y a addition du dibrome sur la double liaison carbone-carbone.

$$C_6H_5–CH=CH–COOH + Br_2 \longrightarrow C_6H_5–CHBr–CHBr–COOH$$

On obtient l'acide 2,3-dibromo-3-phénylpropanoïque.

Il présente deux carbones asymétriques (carbones qui est relié à quatre groupes différents); ils sont indiqués par un astérisque sur le schéma ci-dessous :

$$C_6H_5–C^*HBr–C^*HBr–COOH$$

Les deux carbones asymétriques portent des groupes différents deux à deux. On dénombrera donc quatre stéréo-isomères (il n'y a pas de forme méso).

3) Par élimination de HBr, on obtient *C*.

$$C_6H_5–CHBr–CHBr–COOH \xrightarrow{\text{chauffage}} HBr + CO_2 + C_6H_5CH = CHBr$$

Composé *C* : $C_6H_5CH = CHBr$

Exercice 4 : spectrophotomètre d'absorption

1) a) Soit ϕ_0 le flux incident d'un rayonnement monochromatique arrivant sur un milieu et ϕ le flux de ce rayonnement après traversée du milieu.

On définit la transmission *T* par : $T = \dfrac{\Phi}{\Phi_0}$

L'absorbance est définie par : $A = \log\dfrac{1}{T} = \log\dfrac{\Phi_0}{\Phi}$

b) Loi de Beer Lambert : $A = \varepsilon \cdot c \cdot l$

avec :

A : absorbance ;

c : concentration de l'échantillon en $g.L^{-1}$ ou $mol.L^{-1}$;

l : longueur de la cuve en cm ;

ε : coefficient d'extinction (ou d'absorbance) massique ou molaire en $g^{-1}.L^{-1}.cm^{-1}$ ou $mol.L.cm^{-1}$.

2) Dosage de l'acide picrique.

a) Pour un dosage, on choisit la longueur d'onde au maximum d'absorption pour avoir la meilleure sensibilité.

b) D'après le graphe, ce maximum est pour 450 nm. L'absorbance pour la solution étudiée vaut 2. La solution est à 1,45 $g.L^{-1}$, c'est-à-dire à 1,45/229 = $6,33.10^{-3}$ $mol.L^{-1}$. La longueur de la cuve valant 1cm, en appliquant la loi de Beer Lambert, on trouve :

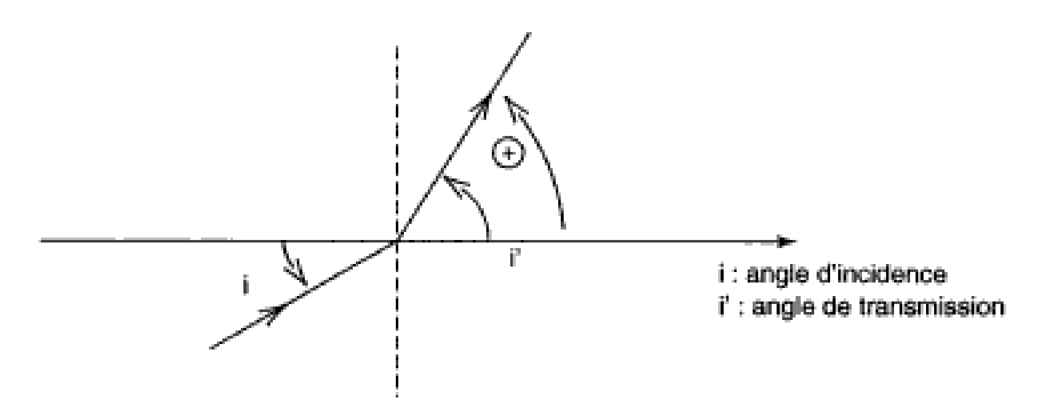
$$\varepsilon = \frac{A}{l\,.\,c} = \frac{2}{1 \times 6{,}33.10^{-3}} = 316\ mol^{-1}.L.cm^{-1}$$

3) Puisqu'il s'agit du même produit, ε garde la même valeur.

On calcule la concentration par : $c = \dfrac{A}{\varepsilon \times l} = \dfrac{0{,}23}{316 \times 1} = 7{,}3.10^{-4}\ mol.L^{-1}$

4) On utilise un réseau à N = 500 traits/mm fonctionnant en transmission pour obtenir la longueur d'onde du dosage λ = 450 nm = 450.10^{-6} mm.

a) Shéma du réseau.



Formule des réseaux : $\sin i' - \sin i = k.N.\lambda$, k étant l'ordre du spectre et N le nombre de traits par mm. λ est alors exprimée en mm.

b) L'incidence est normale, donc $i = 0°$ et $\sin i = 0$.

On veut le spectre d'ordre 1, donc $k = 1$.

En appliquant la formule des réseaux, on trouve :

$\sin i' = 1 \times 450 \times 10^{-6} \times 500 = 0{,}225$ ce qui donne : $\boldsymbol{i' = 13°}$

Achevé d'imprimer en août 2007
sur les presses de l'imprimerie Jouve
Dépôt légal : septembre 2001
Imprimé en France

BIOSCIENCES ET TECHNIQUES

J. Allay, M. Charrin, C. Plas,
M. Rivière, P. Vanneste, S. Vanneste

Analyses biologiques

Sujets de BTS corrigés

Cet ouvrage couvre l'ensemble des disciplines scientifiques de l'examen du BTS Analyses biologiques : mathématiques, physique et chimie, biochimie, biologie humaine, microbiologie, virologie, immunologie, hématologie, histologie, parasitologie.

Les sujets ont été choisis parce qu'ils fournissaient l'éventail de plus large possible des thèmes soumis à évaluation. Les corrections sont détaillées et les explications font souvent l'objet de rappels non exigés des candidats lors de l'examen.

Cet ouvrage leur permet ainsi de réviser tous les points du programme tout au long de l'année et de se préparer efficacement à l'examen.

Il est destiné aux étudiants préparant :
- le BTS Analyses biologiques,
- le DUT Biologie appliquée, option Analyses biologiques et biochimiques,
- le diplôme d'état de technicien en analyses biomédicales (DETAB).

ISBN : 2-7040-1081-1
9 782704 010813